



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0146559
(43) 공개일자 2022년11월01일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/51 (2006.01) A61K 31/436 (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 9/5153 (2013.01)
A61K 31/436 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-7033127
(22) 출원일자(국제) 2021년02월26일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년09월23일
(86) 국제출원번호 PCT/US2021/019927
(87) 국제공개번호 WO 2021/174013
국제공개일자 2021년09월02일
(30) 우선권주장
62/981,602 2020년02월26일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
셀렉타 바이오사이언시즈, 인크.
미국 02472 매사추세츠주 워터타운 그로브 스트리트 65
(72) 발명자
일린스키, 페트르
미국 02140 매사추세츠 케임브리지 햄버턴 스트리트 177 유닛 13
기시모토, 다카시, 게이
미국 02420 매사추세츠 렉싱턴 쿨리지 애비뉴 46
(74) 대리인
양영준, 김영

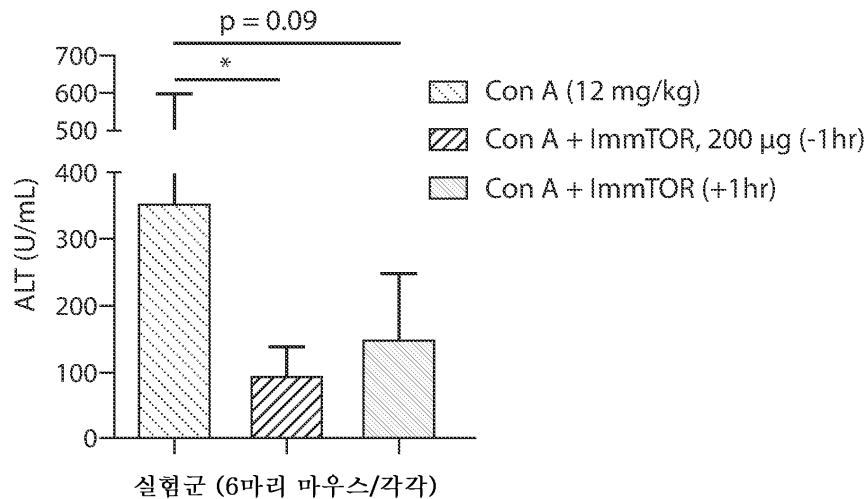
전체 청구항 수 : 총 72 항

(54) 발명의 명칭 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체를 사용하는 방법 및 조성물

(57) 요약

예를 들어 자가포식을 유도하고/거나 면역관용성 표현형을 촉진하는데 사용될 수 있는 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체와 관련된 방법 및 조성물이 본원에 제공된다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A61P 37/06 (2018.01)

(30) 우선권주장

62/981,595 2020년02월26일 미국(US)

62/981,612 2020년02월26일 미국(US)

62/981,606 2020년02월26일 미국(US)

62/981,589 2020년02월26일 미국(US)

62/981,584 2020년02월26일 미국(US)

62/981,586 2020년02월26일 미국(US)

62/981,594 2020년02월26일 미국(US)

PCT/US2020/028132 2020년04월14일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

면역억제제를 포함하는 합성 나노담체를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하며;

여기서 대상체는 자가포식의 유도 또는 증가에 대한 필요를 갖고/거나 자가포식-연관 질환 또는 장애를 갖거나 또는 그의 발생 위험이 있는 것인

대상체에서 자가포식을 유도 또는 증가시키고/거나 대상체에서 자가포식-연관 질환 또는 장애를 치료 또는 예방하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체의 투여가 간에서 자가포식을 증가시키거나, 또는 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체의 투여가 간 이외의 다른 곳에서 자가포식의 유도 또는 증가를 위한 것인 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체가 치료 거대분자와 병용으로 투여되지 않는 것인 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체가 치료 거대분자와 동시에 투여되지 않는 것인 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체가 바이러스 벡터와 병용으로 투여되지 않는 것인 방법.

청구항 6

제8항에 있어서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체가 바이러스 벡터와 동시에 투여되지 않는 것인 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 바이러스 벡터, 치료 거대분자 또는 APC 제시가능한 항원을 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체가 APC 제시가능한 항원과 병용으로 투여되지 않는 것인 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체가 APC 제시가능한 항원과 동시에 투여되지 않는 것인 방법.

청구항 10

제1항 또는 제2항에 있어서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체가 자가포식-연관 질환 또는 장애를 치료 또는 예방하기 위한 또 다른 치료제와 병용으로 투여되지 않는 것인 방법.

청구항 11

제1항 또는 제2항에 있어서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체가 자가포식-연관 질환 또는 장애를 치료 또

는 예방하기 위한 또 다른 치료제와 동시에 투여되지 않는 것인 방법.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 자가포식-연관 질환 또는 장애를 갖거나 또는 갖는 것으로 의심되는 대상체를 확인하고/거나 제공하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 자가포식-연관 질환 또는 장애가 자가면역 질환, CNS 질환 또는 장애, 신경변성 질환, 염증성 질환, 간 질환, 신질환, 심혈관 질환, 근육 변성 질환, 및 감염성 질환으로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 방법.

청구항 14

면역억제제를 포함하는 합성 나노담체를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하며;

여기서 대상체는 이식 거부 또는 거부와 연관된 질환 또는 장애를 갖거나 또는 그의 발생 위험이 있는 것인

대상체에서 기관 또는 조직 이식과 관련된 질환 또는 장애를 치료 또는 예방하는 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체의 투여가 기관 또는 조직 이식과 연관된 면역 반응을 감소시키는 것인 방법.

청구항 16

제15항에 있어서, 면역 반응의 감소가 면역 바이오마커를 매개하는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 17

제16항에 있어서, 면역 바이오마커가 MHC 부류 II 복합체, PD-1, PD-L1, CD80, CD86, CD4 T 세포, CD4 및 CD25 조절 T 세포, 및/또는 CD8 T 세포를 포함하는 것인 방법.

청구항 18

제14항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체의 투여가 면역관용성 표현형을 증가시키는 것인 방법.

청구항 19

제14항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 기관 또는 조직 이식과 연관된 질환 또는 장애를 갖거나 또는 갖는 것으로 의심되는 대상체를 확인하고/거나 제공하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 20

면역억제제를 포함하는 합성 나노담체를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하며;

여기서 대상체는 자가면역 질환 또는 장애를 갖거나 또는 그의 발생 위험이 있는 것인

대상체에서 자가면역 질환 또는 장애를 치료 또는 예방하는 방법.

청구항 21

제20항에 있어서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체의 투여가 자가면역 질환 또는 장애와 연관된 면역 반응을 감소시키는 것인 방법.

청구항 22

제21항에 있어서, 면역 반응의 감소가 면역 바이오마커를 매개하는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 23

제22항에 있어서, 면역 바이오마커가 MHC 부류 II 복합체, PD-1, PD-L1, CD80, CD86, CD4 T 세포, CD4 및 CD25 조절 T 세포, 및/또는 CD8 T 세포를 포함하는 것인 방법.

청구항 24

제20항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체의 투여가 면역관용성 표현형을 증가시키는 것인 방법.

청구항 25

제20항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 자가면역 질환 또는 장애를 갖거나 또는 갖는 것으로 의심되는 대상체를 확인하고/거나 제공하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 26

면역억제제를 포함하는 합성 나노담체를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하며;

여기서 대상체는 NF-κB-매개 염증을 갖거나 또는 그의 발생 위험이 있는 것인

대상체에서 NF-κB-매개 염증을 치료 또는 예방하는 방법.

청구항 27

제26항에 있어서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체의 투여가 NF-κB-매개 염증을 감소시키는 것인 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, NF-κB-매개 염증의 감소가 면역 바이오마커를 매개하는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 29

제28항에 있어서, 면역 바이오마커가 MHC 부류 II 복합체, PD-1, PD-L1, CD80, CD86, CD4 T 세포, CD4 및 CD25 조절 T 세포, 및/또는 CD8 T 세포를 포함하는 것인 방법.

청구항 30

제26항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체의 투여가 면역관용성 표현형을 증가시키는 것인 방법.

청구항 31

제26항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, NF-κB-매개 염증을 갖거나 또는 갖는 것으로 의심되는 대상체를 확인하고/거나 제공하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 32

면역억제제를 포함하는 합성 나노담체를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하며;

여기서 대상체는 1) PD-L1 및/또는 PD-1의 상향조절 및/또는 2) MHC 부류-II 및/또는 CD80 및/또는 CD86의 하향조절을 필요로 하는 것인

대상체에서 1) PD-L1 및/또는 PD-1을 상향조절하고/거나 2) MHC 부류-II 및/또는 CD80 및/또는 CD86을 하향조절하는 방법.

청구항 33

제32항에 있어서, 대상체가 자가면역 질환 또는 장애, 알레르기, 또는 이식편 또는 이식물 거부를 갖거나 또는 그의 발생 위험이 있는 것인 방법.

청구항 34

제33항에 있어서, 면역 반응의 감소가 면역 바이오마커를 매개하는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 35

제34항에 있어서, 면역 바이오마커가 MHC 부류 II 복합체, PD-1, PD-L1, CD80 및/또는 CD86을 포함하는 것인 방법.

청구항 36

제32항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체의 투여가 면역관용성 표현형을 증가시키는 것인 방법.

청구항 37

제32항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상향조절 및/또는 하향조절을 필요로 하는 대상체를 확인하고/거나 제공하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 38

면역억제제를 포함하는 합성 나노담체를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하며;

여기서 대상체는 이중 음성 T 세포의 증진을 필요로 하는 것인

대상체에서 이중 음성 T 세포를 증진시키는 방법.

청구항 39

제38항에 있어서, 대상체가 허혈성 졸중, 중증 근무력증, 전신 홍반성 루푸스, 자가면역 림프증식성 증후군, 베체트병 (BD), 자가면역 림프증식성 증후군 (ALPS, 또한 카날레-스미스 증후군으로도 공지됨), 소아 자가면역, SLE, 쇼그렌 증후군, 또는 건선을 갖거나 또는 그의 발생 위험이 있는 것인 방법.

청구항 40

제39항에 있어서, 면역 반응의 감소가 이중 음성 T 세포 증진의 면역 바이오마커를 매개하는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 41

제38항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체의 투여가 면역관용성 표현형을 증가시키는 것인 방법.

청구항 42

제38항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 증진을 필요로 하는 대상체를 확인하고/거나 제공하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 43

제1항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 면역억제제가 mTOR 억제제인 방법.

청구항 44

제43항에 있어서, mTOR 억제제가 라파마이신 또는 라파로그인 방법.

청구항 45

제1항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 면역억제제가 합성 나노담체 내에 캡슐화된 것인 방법.

청구항 46

제1항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 합성 나노담체가 지질 나노입자, 중합체 나노입자, 금속성 나노입자, 계면활성제-기반 에멀전, 텐드리머, 버키볼, 나노와이어, 바이러스-유사 입자 또는 펩티드 또는 단백질 입자를 포함하는 것인 방법.

청구항 47

제46항에 있어서, 합성 나노담체가 중합체 나노입자를 포함하는 것인 방법.

청구항 48

제47항에 있어서, 중합체 나노입자가 폴리에스테르, 폴리에테르에 부착된 폴리에스테르, 폴리아미노산, 폴리카르보네이트, 폴리아세탈, 폴리케탈, 폴리사카라이드, 폴리에틸옥사졸린 또는 폴리에틸렌이민을 포함하는 것인 방법.

청구항 49

제48항에 있어서, 중합체 나노입자가 폴리에스테르 또는 폴리에테르에 부착된 폴리에스테르를 포함하는 것인 방법.

청구항 50

제48항 또는 제49항에 있어서, 폴리에스테르가 폴리(락트산), 폴리(글리콜산), 폴리(락트산-코-글리콜산) 또는 폴리카프로락톤을 포함하는 것인 방법.

청구항 51

제48항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 중합체 나노입자가 폴리에스테르 및 폴리에테르에 부착된 폴리에스테르를 포함하는 것인 방법.

청구항 52

제48항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리에테르가 폴리에틸렌 글리콜 또는 폴리프로필렌 글리콜을 포함하는 것인 방법.

청구항 53

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 합성 나노담체 집단의 동적 광 산란을 사용하여 수득된 입자 크기 분포의 평균이 110nm 초과인 직경인 방법.

청구항 54

제53항에 있어서, 직경이 150nm 초과인 방법.

청구항 55

제54항에 있어서, 직경이 200nm 초과인 방법.

청구항 56

제55항에 있어서, 직경이 250nm 초과인 방법.

청구항 57

제53항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 직경이 5 μ m 미만인 방법.

청구항 58

제57항에 있어서, 직경이 4 μ m 미만인 방법.

청구항 59

제58항에 있어서, 직경이 3 μ m 미만인 방법.

청구항 60

제59항에 있어서, 직경이 2 μ m 미만인 방법.

청구항 61

제60항에 있어서, 직경이 1 μm 미만인 방법.

청구항 62

제61항에 있어서, 직경이 750nm 미만인 방법.

청구항 63

제62항에 있어서, 직경이 500nm 미만인 방법.

청구항 64

제63항에 있어서, 직경이 450nm 미만인 방법.

청구항 65

제64항에 있어서, 직경이 400nm 미만인 방법.

청구항 66

제65항에 있어서, 직경이 350nm 미만인 방법.

청구항 67

제66항에 있어서, 직경이 300nm 미만인 방법.

청구항 68

제1항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, 합성 나노담체에 포함된 면역억제제의 로드가 합성 나노담체 전반에 걸쳐 평균 0.1% 내지 50% (중량/중량)인 방법.

청구항 69

제68항에 있어서, 로드가 4% 내지 40%인 방법.

청구항 70

제69항에 있어서, 로드가 5% 내지 30%인 방법.

청구항 71

제70항에 있어서, 로드가 8% 내지 25%인 방법.

청구항 72

제1항 내지 제71항 중 어느 한 항에 있어서, 합성 나노담체 집단의 중량비가 1:1, 1:1.2, 1:1.5, 1:2, 1:3, 1:5, 1:7 또는 1:10 이상인 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원

[0002] 본 출원은 2020년 4월 14일에 출원된 국제 특허 출원 번호 PCT/US2020/028132의 일부 계속 출원이다. 35 U.S.C. § 119, 35 U.S.C. § 120 또는 35 U.S.C. § 365(b) 하에, 2020년 2월 26일에 출원된 미국 가출원 번호 62/981606; 2020년 2월 26일에 출원된 미국 가출원 번호 62/981612; 2020년 2월 26일에 출원된 미국 가출원 번호 62/981594; 2020년 2월 26일에 출원된 미국 가출원 번호 62/981584; 2020년 2월 26일에 출원된 미국 가출원 번호 62/981586; 2020년 2월 26일에 출원된 미국 가출원 번호 62/981589; 2020년 2월 26일에 출원된 미국 가출원 번호 62/981595; 2020년 2월 26일에 출원된 미국 가출원 번호 62/981602; 및 2020년 4월 14일에 출원된

국제 특허 출원 번호 PCT/US2020/028132의 우선권 이익을 주장한다. 각각의 이들 출원의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0003] 발명의 분야

[0004] 자가포식을 유도하고/거나 면역관용발생을 촉진하기 위한 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체와 관련된 방법 및 조성물이 본원에 제공된다. 조성물 및 방법은 본원에 제공된 바와 같이 자가포식-연관 질환 또는 장애를 치료 또는 예방하고/거나 특정 면역 반응을 조정하는데 사용될 수 있다. 조성물 및 방법은 대상체에서 중추 신경계 (CNS) 질환 또는 장애, 기관 또는 조직의 이식과 관련된 질환 또는 장애, 또는 자가면역 질환 또는 장애를 치료 또는 예방하는데 사용될 수 있다. 조성물 및 방법은 또한 대상체에서 NF- κ B-매개 염증을 치료 또는 예방하기 위해, 1) PD-L1 및/또는 PD-1 상향조절 및/또는 2) MHC 부류-II 및/또는 CD80 및/또는 CD86 하향조절을 위해, 및/또는 이중 음성 T 세포를 증진시키기 위해 사용될 수 있다.

발명의 내용

[0005] 한 측면에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 자가포식을 유도하거나 증가시키는 방법이 본원에 제공된다. 한 실시양태에서, 대상체는 자가포식의 유도 또는 증가를 필요로 하는 것이다.

[0006] 한 측면에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 대상체는 자가포식-연관 질환 또는 장애를 갖거나 또는 그의 발생 위험이 있는 것인, 대상체에서 자가포식-연관 질환 또는 장애를 치료 또는 예방하는 방법이 본원에 제공된다.

[0007] 한 측면에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 대상체는 중추 신경계 (CNS) 질환 또는 장애 (예를 들어, 신경변성 질환 또는 장애)를 갖거나 또는 그의 발생 위험이 있는 것인, 대상체에서 CNS 질환 또는 장애를 치료 또는 예방하는 방법이 본원에 제공된다. 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체의 투여는 중추 신경계 (예를 들어, 뇌, 척수, 시신경)에서 자가포식을 증가시킨다.

[0008] 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체의 투여는 간에서 자가포식을 증가시킨다. 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체의 투여는 폐, 심장, 신장 또는 뇌, 또는 그의 임의의 조합에서 자가포식을 증가시킬 수 있다.

[0009] 한 측면에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 대상체는 기관 또는 조직 이식과 관련된 질환 또는 장애 또는 상태를 갖거나 또는 그의 발생 위험이 있는 것인, 대상체에서 기관 또는 조직 이식과 관련된 질환 또는 장애를 치료 또는 예방하는 방법이 본원에 제공된다.

[0010] 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 대상체는 이식편 대 숙주 질환 (GVHD)을 갖거나 또는 가질 위험이 있는 것이다. 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 대상체는 골수 또는 줄기 세포 이식편과 연관된 이식편 대 숙주 질환 (GVHD)을 갖거나 또는 가질 위험이 있는 것이다. 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 기관 또는 조직 이식과 관련된 질환 또는 장애는 이식편 대 숙주 질환 (GVHD)이 아니다.

[0011] 한 측면에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 대상체는 자가면역 질환 또는 장애를 갖거나 또는 그의 발생 위험이 있는 것인, 대상체에서 자가면역 질환 또는 장애를 치료 또는 예방하는 방법이 본원에 제공된다.

[0012] 한 측면에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 대상체는 NF- κ B-매개 염증을 갖거나 또는 그의 발생 위험이 있는 것인, 대상체에서 NF- κ B-매개 염증을 치료 또는 예방하는 방법이 본원에 제공된다.

[0013] 한 측면에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 대상체는 1) PD-L1 및/또는 PD-1의 상향조절 및/또는 2) MHC 부류-II 및/또는 CD80 및/또는 CD86의 하향조절을 필요로 하는 것인, 대상체에서 1) PD-L1 및/또는 PD-1을 상향조절하고/거나 2) MHC 부류-II 및/또는 CD80 및/또는 CD86을 하향조절하는 방법이 본원에 제공된다.

[0014] 한 측면에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하며,

여기서 대상체는 이중 음성 T 세포 증진을 필요로 하는 것인, 대상체에서 이중 음성 T 세포를 증진시키는 방법이 본원에 제공된다.

- [0015] 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체의 투여는 자가포식을 유도한다 (예를 들어, ATG7, LC3II, 및/또는 p62의 수준을 조정함).
- [0016] 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 대상체는 자가면역 질환 또는 장애, 알레르기, 이식편 또는 이식물 거부, 또는 항-약물 항체 반응을 갖거나 또는 그의 발생 위험이 있거나, 또는 치료 약물 면역원성의 완화를 필요로 한다.
- [0017] 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 대상체는 허혈성 졸중, 중증 근무력증, 전신 홍반성 루푸스, 자가면역 림프증식성 증후군, 베체트병 (BD), 자가면역 림프증식성 증후군 (ALPS, 또한 카날레-스미스 증후군으로도 공지됨), 소아 자가면역, SLE, 쇼그렌 증후군, 또는 건선을 갖거나 또는 그의 발생 위험이 있다.
- [0018] 제공된 방법 중 어느 하나의 일부 실시양태에서, 방법은 면역 반응을 감소시키고/거나 면역 바이오마커를 매개하는 것을 포함한다. 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 면역 바이오마커는 MHC 부류 II 복합체, PD-1, PD-L1, CD80, CD86, CD4 T 세포, CD4 및 CD25 조절 T 세포, 및/또는 CD8 T 세포를 포함한다. 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 면역 바이오마커는 MHC 부류 II 복합체, PD-L1, CD80, 및/또는 CD86을 포함한다. 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 면역 바이오마커는 1종 이상의 이중 음성 T 세포 바이오마커를 포함한다.
- [0019] 제공된 방법 중 어느 하나의 일부 실시양태에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체의 투여는 면역관용성 표현형을 증가시킨다.
- [0020] 제공된 방법 중 어느 하나의 일부 실시양태에서, 방법은 본원에 제공된 방법 또는 조성물을 필요로 하는 대상체를 확인하고/거나 제공하는 것을 추가로 포함한다.
- [0021] 제공된 방법 중 어느 하나의 일부 실시양태에서, 방법은 기관 또는 조직 이식과 연관된 질환 또는 장애를 갖거나 또는 갖는 것으로 의심되는 대상체를 확인하고/거나 제공하는 것을 추가로 포함한다.
- [0022] 제공된 방법 중 어느 하나의 일부 실시양태에서, 방법은 자가면역 질환 또는 장애를 갖거나 또는 갖는 것으로 의심되는 대상체를 확인하고/거나 제공하는 것을 추가로 포함한다.
- [0023] 제공된 방법 중 어느 하나의 일부 실시양태에서, 방법은 NF-κB-매개 염증을 갖거나 또는 갖는 것으로 의심되는 대상체를 확인하고/거나 제공하는 것을 추가로 포함한다.
- [0024] 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 치료 거대분자와 병용으로 투여되지 않거나, 또는 치료 거대분자 및 개별 (예를 들어, 동일 투여되는 조성물 중에 있지 않음) 투여되는 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체의 조합으로 병용으로 투여된다. 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 치료 거대분자와 동시에 투여되지 않는다.
- [0025] 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 바이러스 벡터와 병용으로 투여되지 않거나, 또는 바이러스 벡터 및 개별 (예를 들어, 동일 투여되는 조성물 중에 있지 않음) 투여되는 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체의 조합으로 병용으로 투여된다. 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 바이러스 벡터와 동시에 투여되지 않는다.
- [0026] 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 APC 제시가능한 항원과 병용으로 투여되지 않거나, 또는 APC 제시가능한 항원 및 개별 (예를 들어, 동일 투여되는 조성물 중에 있지 않음) 투여되는 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체의 조합으로 병용으로 투여된다. 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 APC 제시가능한 항원과 동시에 투여되지 않는다.
- [0027] 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 방법은 본원에 제공된 바와 같은 방법 또는 조성물을 필요로 하는 대상체를 제공하는 것을 추가로 포함한다.
- [0028] 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 방법은 대상체를 본원에 제공된 방법을 필요로 하는 것으로서 또는 본원에 제공된 질환 또는 장애 또는 상태 중 어느 하나를 갖거나 또는 가질 위험이 있는 것으로서 확인하는 것을 추가로 포함한다.
- [0029] 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 본원에 제공된

바와 같은 어느 하나 이상의 목적에 유효한 양으로 존재한다. 방법은 상이한 목적을 위해 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체를 개별 투여하는 것을 포함할 수 있고, 이러한 실시양태에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 이러한 상이한 목적에 유효한 양으로 존재한다.

- [0030] 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 방법은 자가포식의 유도 또는 증가를 필요로 하거나 또는 자가포식-연관 질환 또는 장애를 갖거나 또는 갖는 것으로 의심되는 대상체를 제공하는 것을 추가로 포함한다.
- [0031] 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 방법은 대상체를 본원에 제공된 방법을 필요로 하는 것으로서 또는 자가포식의 유도 또는 증가를 필요로 하거나 또는 자가포식-연관 질환 또는 장애를 갖거나 또는 가질 위험이 있는 것으로서 확인하는 것을 추가로 포함한다.
- [0032] 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 자가포식을 유도하거나 증가시키기 위한 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 대상체에서 자가포식을 유도하거나 증가시키기 위한 유효량으로 존재한다.
- [0033] 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 자가포식-연관 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하기 위한 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 자가포식-연관 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하기 위한 유효량으로 존재한다. 방법은 상이한 목적 (예를 들어, 자가포식을 유도하거나 증가시키는 것이 아님)을 위해 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체를 개별 투여하는 것을 포함할 수 있고, 이러한 실시양태에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 이러한 상이한 목적에 유효한 양으로 투여된다.
- [0034] 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 자가포식-연관 질환 또는 장애는 자가면역 질환, 신경변성 질환, 염증성 질환, 당뇨병 (예를 들어, 제I형, 제II형), 간 질환, 신질환, 심혈관 질환, 근육 변성 질환, 대사 질환, 대사 증후군, 리소솜 축적 장애, 노화-관련 질환, 미토콘드리아 질환, 및 감염성 질환으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0035] 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 방법은 CNS 질환 또는 장애를 갖거나 또는 갖는 것으로 의심되는 대상체를 제공하는 것을 추가로 포함한다.
- [0036] 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 방법은 대상체를 본원에 제공된 방법을 필요로 하는 것으로서 또는 CNS 질환 또는 장애를 갖거나 또는 가질 위험이 있는 것으로서 확인하는 것을 추가로 포함한다.
- [0037] 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, CNS 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하기 위한 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 자가포식을 유도 또는 증가시키거나 CNS 질환 또는 장애를 치료 또는 예방하기 위한 유효량으로 존재한다. 방법은 상이한 목적 (예를 들어, 자가포식을 유도하거나 증가시키는 것이 아님)을 위해 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체를 개별 투여하는 것을 포함할 수 있고, 이러한 실시양태에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 이러한 상이한 목적에 유효한 양으로 투여된다.
- [0038] 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, CNS 질환 또는 장애는 알츠하이머병, 헌팅톤병, 파킨슨병, 및 근위축성 측삭 경화증 (ALS)으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0039] 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 방법은 기관 또는 조직 이식과 연관된 질환 또는 장애를 갖거나 또는 갖는 것으로 의심되는 대상체를 제공하는 것을 추가로 포함한다.
- [0040] 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 방법은 대상체를 본원에 제공된 방법을 필요로 하는 것으로서 또는 기관 또는 조직 이식과 연관된 질환 또는 장애를 갖거나 또는 가질 위험이 있는 것으로서 확인하는 것을 추가로 포함한다.
- [0041] 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 기관 또는 조직 이식과 연관된 질환 또는 장애 또는 상태를 치료하거나 예방하기 위한 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 기관 또는 조직 이식과 연관된 질환 또는 장애를 치료 또는 예방하고/거나 면역관용성 표현형을 촉진하기 위한 유효량으로 존재한다. 방법은 상이한 목적을 위해 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체를 개별 투여하는 것을 포함할 수 있고, 이러한 실시양태에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 이러한 상이한 목적에 유효한 양으로 존재한다.
- [0042] 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 방법은 자가면역 질환 또는 장애를 갖거나 또는 갖는 것으로 의심되는 대상체를 제공하는 것을 추가로 포함한다.
- [0043] 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 방법은 대상체를 본원에 제공된 방법을 필요로 하는 것으로서 또는 자가면역 질환 또는 장애를 갖거나 또는 가질 위험이 있는 것으로서 확인하는 것을 추가로 포함한다.

- [0044] 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 자가면역 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하기 위한 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 본원에 제공된 면역 반응 중 어느 하나를 조정하고/거나 자가면역 질환 또는 장애를 치료 또는 예방하기 위한 유효량으로 존재한다. 방법은 상이한 목적을 위해 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체를 개별 투여하는 것을 포함할 수 있고, 이러한 실시양태에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 이러한 상이한 목적에 유효한 양으로 존재한다.
- [0045] 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 방법은 NF- κ B-매개 염증을 갖거나 또는 갖는 것으로 의심되는 대상체를 제공하는 것을 추가로 포함한다.
- [0046] 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 방법은 대상체를 본원에 제공된 방법을 필요로 하는 것으로서 또는 NF- κ B-매개 염증을 갖거나 또는 가질 위험이 있는 것으로서 확인하는 것을 추가로 포함한다.
- [0047] 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 NF- κ B-매개 염증을 치료 또는 예방하기 위한 유효량으로 존재한다. 방법은 상이한 목적을 위해 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체를 개별 투여하는 것을 포함할 수 있고, 이러한 실시양태에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 이러한 상이한 목적에 유효한 양으로 존재한다.
- [0048] 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 대상체는 본원에 제공된 대상체 중 어느 하나이다. 한 실시양태에서, 대상체는 유아 또는 소아 대상체이다.
- [0049] 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 면역억제제는 mTOR 억제제이다. 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, mTOR 억제제는 라파마이신 또는 라파로그이다.
- [0050] 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 면역억제제는 합성 나노담체 내에 캡슐화된다.
- [0051] 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 합성 나노담체는 지질 나노입자, 중합체 나노입자, 금속성 나노입자, 계면활성제-기반 에멀전, 덴드리머, 버키볼, 나노와이어, 바이러스-유사 입자 또는 펩티드 또는 단백질 입자를 포함한다. 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 중합체 나노입자는 폴리에스테르, 폴리에테르에 부착된 폴리에스테르, 폴리아미노산, 폴리카르보네이트, 폴리아세탈, 폴리케탈, 폴리사카라이드, 폴리에틸옥사졸린 또는 폴리에틸렌이민을 포함한다. 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 중합체 나노입자는 폴리에스테르 또는 폴리에테르에 부착된 폴리에스테르를 포함한다. 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 폴리에스테르는 폴리(락트산), 폴리(글리콜산), 폴리(락트산-코-글리콜산) 또는 폴리카프로락톤을 포함한다. 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 중합체 나노입자는 폴리에스테르 및 폴리에테르에 부착된 폴리에스테르를 포함한다. 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 폴리에테르는 폴리에틸렌 글리콜 또는 폴리프로필렌 글리콜을 포함한다.
- [0052] 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 합성 나노담체 집단의 동적 광 산란을 사용하여 수득된 입자 크기 분포의 평균은 110nm 초과, 150nm 초과, 200nm 초과, 또는 250nm 초과인 직경이다. 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 합성 나노담체 집단의 동적 광 산란을 사용하여 수득된 입자 크기 분포의 평균은 5 μ m 미만, 4 μ m 미만, 3 μ m 미만, 2 μ m 미만, 1 μ m 미만, 750nm 미만, 500nm 미만, 450nm 미만, 400nm 미만, 350nm 미만, 또는 300nm 미만이다.
- [0053] 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 합성 나노담체에 포함된 면역억제제의 로드는 합성 나노담체 전반에 걸쳐 평균 0.1% 내지 50% (중량/중량), 4% 내지 40%, 5% 내지 30%, 또는 8% 내지 25%이다.
- [0054] 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 합성 나노담체 집단의 중형비는 1:1, 1:1.2, 1:1.5, 1:2, 1:3, 1:5, 1:7 또는 1:10 이상이다.
- [0055] 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 대상체는 간 질환 또는 장애를 갖지 않는 것이고/거나 간 질환 또는 장애 또는 간 독성을 치료 또는 예방하기 위해 본원에 제공된 조성물을 필요로 하는 것이 아니다.
- [0056] 또 다른 측면에서, 제공된 방법 중 어느 하나 또는 실시예 중 어느 하나에 기재된 바와 같은 조성물이 제공된다. 한 실시양태에서, 조성물은 제공된 방법 중 어느 하나에 따른 투여를 위한 조성물 중 어느 하나이다.
- [0057] 또 다른 측면에서, 조성물 중 어느 하나는 제공된 방법 중 어느 하나에 사용하기 위한 것이다.

도면의 간단한 설명

[0058]

도 1은 비처리되거나 또는 공 나노입자 또는 ImmTOR™로 처리된 OTC 결핍 무린 모델에서의 자가포식 마커 LC3II, p26, 및 ATG7의 수준을 보여준다.

도 2는 ImmTOR™을 사용한 예방적 또는 치유적 치료가 폴리클로날 T 세포 활성화제인 콘카나발린 A (Con A)로의 마우스 켈린지 24시간 후에 알라닌 아미노트랜스퍼라제 (ALT)의 혈청 수준을 감소시킨다는 것을 보여준다. 통계적 유의성이 표시된다 (*, $p < 0.05$).

도 3은 어린 OTC^{spf-ash} 마우스에서의 ImmTOR™ 나노입자의 내약성 연구 결과, 처리된 마우스의 간 용해물에서의 자가포식 마커를 보여준다 (도 3).

도 4a 및 4b는 ImmTOR™ 입자가 12 mg/kg ImmTOR™ 나노입자 또는 12 mg/kg의 공-입자를 정맥내로 주사한 어린 OTC^{spf-ash} 마우스의 간에서 자가포식을 유도한다는 것을 보여준다 ($n=4$ /군). 도 4a는 ATG7, LC3II, 및 p62의 웨스턴 블롯 분석을 보여준다. 도 4b는 ATG7, LC3II, 및 p62의 수준에 대한 밀도측정 정량화를 보여준다. 터키 다중 비교 검정과 함께 일원 ANOVA에 의해 통계적 분석을 수행하였다. (* p -값 <0.05).

도 5a는 안와후 (r.o.) 주사 (ImmTOR™ -알렉사488 또는 ImmTOR™ -A488; 캡슐화된 형광 태그 알렉사488로 변형된 ImmTOR)에 의한 간으로의 ImmTOR™ 트래킹의 검출 및 표현형 특징화의 연구 설계를 보여준다. ImmTOR은 200 μ g 라파마이신 (RAPA)을 함유한다. 결과는 유동 세포측정법을 통해 검출하였다. 비장 및 간을 수거하기 72시간, 48시간, 및/또는 24시간 전에 마우스에게 ImmTOR™을 주사하였다. ImmTOR™ 투여 시간을 화살표로 나타낸다. 도 5b는 마우스에게의 ImmTOR™-A488 주사 72시간, 48시간, 및 24시간 후, 수거한 간 세포로의 ImmTOR™ -A488 트래킹의 유동 세포측정 결과를 보여준다. 결과는 나이브 처리군 (대조군)과 비교하여 막대 그래프로 제시된다.

도 6a는 마우스에게 200 μ g 라파마이신을 포함하는 ImmTOR™ -CY5를 투여하고 7일 후 간세포 및 간 동모양혈관 내피 세포 (LSEC)에서의 MHC 부류 II 및 PD-L1 발현의 유동 세포측정 결과를 보여준다. 도 6b는 비교된 총 간 세포, 200 μ g 라파마이신을 포함하는 ImmTOR™ -CY5의 부재 하의 간세포, 200 μ g 라파마이신을 포함하는 ImmTOR™ -CY5의 존재 하의 간세포, 및 나이브 처리군 (대조군)의 감소된 MHC-II 발현 및 증가된 PD-L1 발현의 막대 그래프를 각각 보여준다.

도 7은 세포를 수거하기 7일, 5일, 및 3일 전에 200 μ g 라파마이신을 포함하는 ImmTOR™ -CY5를 투여한 후 간 동모양혈관 내피 세포 (LSEC), 쿠퍼 세포 (KC) 및 간-상주 T 세포에서의 반응을 평가하는 연구 설계를 보여준다.

도 8a 및 8b는 간 동모양혈관 내피 세포 (LSEC, 도 8a) 또는 쿠퍼 세포 (KC, 도 8b)의 수거 7일, 5일, 및 3일 전에 200 μ g 라파마이신을 포함하는 ImmTOR™-CY5를 투여한 후의 PD-L1의 발현을 보여준다. 통계적 유의성이 표시된다 (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

도 9a 및 9b는 간 동모양혈관 내피 세포 (LSEC, 도 9a) 또는 쿠퍼 세포 (KC, 도 9b)의 수거 7일, 5일, 및 3일 전에 200 μ g 라파마이신을 포함하는 ImmTOR™ -CY5를 투여한 후의 MHC 부류 II의 발현을 보여준다. 통계적 유의성이 표시된다 (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

도 10은 간 동모양혈관 내피 세포 (LSEC)의 수거 7일, 5일, 및 3일 전에 200 μ g 라파마이신을 포함하는 ImmTOR™ -CY5를 투여한 후의 PD-L1의 상향조절된 발현을 보여주는 유동 세포측정법 및 막대 그래프 결과를 보여준다. 통계적 유의성이 표시된다 (** $p < 0.01$).

도 11a는 간 동모양혈관 내피 세포 (LSEC)의 수거 7일, 5일, 및 3일 전에 200 μ g 라파마이신을 포함하는 ImmTOR™ -CY5를 투여한 후의 간 동모양혈관 내피 세포 (LSEC)에서의 CD80의 하향조절된 발현을 보여주는 막대 그래프 결과를 보여준다. 통계적 유의성이 표시된다 (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$). 도 11b는 간 동모양혈관 내피 세포 (LSEC)의 수거 7일, 5일, 및 3일 전에 200 μ g 라파마이신을 포함하는 ImmTOR™ -CY5를 투여한 후의 간 동모양혈관 내피 세포 (LSEC)에서의 CD86의 하향조절된 발현을 보여주는 막대 그래프 결과를 보여준다. 통계적 유의성이 표시된다 (** $p < 0.01$).

도 12는 간 동모양혈관 내피 세포 (LSEC)의 수거 7일, 5일, 및 3일 전에 200 μ g 라파마이신을 포함하는 ImmTOR™ -CY5를 투여한 후 수거된 LSEC를 조합한 것이 유의하게 하향조절된 CD80 및 CD86 및 유의하게 상향조절된 PD-L1을 입증한 경우, LSEC에서의 면역관용성 표현형의 유도를 보여주는 막대 그래프 결과를 보여준다. 통계적 유의성이 표시된다 (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

도 13은 (1) 안와후 (r.o.) 주사를 통한 200 μ g 라파마이신을 포함하는 ImmTOR™ 및 비처리 대조군, 및 (2) 안와후 (r.o.) 주사를 통한 200 μ g 라파마이신을 포함하는 ImmTOR™, 복강내 주사 (i.p.)를 통한 유리 가용성 200 μ g 라파마이신, 및 비처리 대조군의 효과를 비교하기 위한 연구 설계를 보여준다. 모든 주사를 간 상주 T 세포의 수거 7일 전에 투여하였다. 일부 주사는 간 세포의 수거 5일 또는 3일 전에 투여하였다.

도 14a-14c는 간 세포의 수거 7일, 5일, 및 3일 전에 200 μ g 라파마이신을 포함하는 ImmTOR™의 투여 후 (a) 간 상주 CD4 T 세포, (b) 간 CD4 및 CD25 조절 T 세포, 및 (c) 간 CD4 PD-1+ T 세포의 발현의 막대 그래프를 보여준다. 통계적 유의성이 표시된다 (* $p < 0.05$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$).

도 15a 및 15b는 200 μ g 라파마이신을 포함하는 ImmTOR™, 가용성 200 μ g 라파마이신의 투여 후, 및 비처리군의 마우스 간 상주 면역관용성 CD4 T 세포 상에서의 (a) CD4+CD25+ PD-1+의 발현의 막대 그래프를 보여준다. 통계적 유의성이 표시된다 (* $p < 0.05$). (b) 세포의 수거 7일 전 200 μ g 라파마이신을 포함하는 ImmTOR™의 투여 후 간 상주 면역관용성 CD4 T 세포 상의 CD4+CD25+ PD-1+ (***) $p < 0.001$).

도 16a 및 16b는 200 μ g 라파마이신을 포함하는 ImmTOR™, 가용성 200 μ g 라파마이신의 투여 후, 및 비처리군의 마우스 간 상주 면역관용성 CD8 T 세포 상에서의 (a) CD8+ (CD3+CD8+) T 세포 및 이중 음성 (CD3+CD4-CD8-) T 세포의 발현의 막대 그래프를 보여준다. 통계적 유의성이 표시되며 (* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$), (b)는 세포의 수거 7일 전 200 μ g 라파마이신을 포함하는 ImmTOR™의 투여 후 및 비처리군의 이중 음성 (CD3+CD4-CD8-) T 세포이다. 통계적 유의성이 표시된다 (***) $p < 0.001$).

도 17은 GvHD에서의 치사성이 본원에 제공된 합성 나노담체에 의해 얼마나 제한될 수 있는지를 입증한다.

도 18은 GvHD에서의 체중 감소가 본원에 제공된 합성 나노담체에 의해 얼마나 제한될 수 있는지를 입증한다.

도 19는 본원에 제공된 합성 나노담체가 얼마나 공여자 세포의 생존을 가능하게 하면서 숙주 림프구를 보존하는지를 입증한다.

도 20은 GvHD에서의 치사성이 본원에 제공된 합성 나노담체에 의해 얼마나 용량-의존성 방식으로 제한될 수 있는지를 입증한다.

도 21은 본원에 제공된 합성 나노담체의 단일 용량이 GvHD 치사성을 얼마나 구제할 수 있는지를 입증한다.

도 22는 본원에 제공된 합성 나노담체가 GvHD의 징후를 얼마나 감소시킬 수 있는지를 입증한다.

도 23은 본원에 제공된 합성 나노담체가 공여자 세포 생존을 얼마나 촉진할 수 있는지를 입증한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0059] 본 발명을 상세하게 설명하기 전에, 본 발명은 특정하게 예시된 물질 또는 공정 파라미터로 제한되지 않으며, 물론 변경될 수 있는 것으로 이해해야 한다. 본원에 사용된 용어는 단지 본 발명의 특정한 실시양태를 설명하기 위한 것이며, 본 발명을 설명하기 위한 대체 용어의 사용을 제한하고자 하는 것이 아님을 이해해야 한다.
- [0060] 상기 또는 하기에서 본원에 인용된 모든 공개, 특허 및 특허 출원은 모든 목적을 위해 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.
- [0061] 본 명세서 및 첨부된 청구범위에 사용된 단수 형태는 내용이 달리 명백하게 지시하지 않는 한 복수 지시대상을 포함한다. 예를 들어, "중합체"에 대한 언급은 2개 이상의 이러한 분자의 혼합물 또는 상이한 분자량의 단일 중합체 종의 혼합물을 포함하고, "합성 나노담체"에 대한 언급은 2개 이상의 이러한 합성 나노담체의 혼합물 또는 복수의 이러한 합성 나노담체를 포함하는 등이다.
- [0062] 본원에 사용된 용어 "포함하다" 또는 그의 변형, 예컨대 "포함한다" 또는 "포함하는"은 임의의 나열된 정수 (예를 들어, 특색, 요소, 특징, 특성, 방법/공정 단계 또는 제한) 또는 정수들 군 (예를 들어, 특색들, 요소들, 특징들, 특성들, 방법/공정 단계들 또는 제한들)을 포함하지만, 임의의 다른 정수 또는 정수들 군을 배제하지 않는다는 것을 표시하는 것으로 판독되어야 한다. 따라서, 본원에 사용된 용어 "포함하는"은 포괄적이며 추가의 나열되지 않은 정수 또는 방법/공정 단계를 배제하지 않는다.
- [0063] 본원에 제공된 조성물 및 방법 중 어느 하나의 실시양태에서, "포함하는"은 "로 본질적으로 이루어진" 또는 "로 이루어진"으로 대체될 수 있다. 어구 "로 본질적으로 이루어진"은 명시된 정수(들) 또는 단계뿐만 아니라 청구된 본 발명의 특징 또는 기능에 실질적으로 영향을 미치지 않는 것을 요구하기 위해 본원에 사용된다. 본원에 사용된 용어 "로 이루어진"은 나열된 정수 (예를 들어, 특색, 요소, 특징, 특성, 방법/공정 단계 또는 제한) 또

는 정수들 군 (예를 들어, 특색들, 요소들, 특징들, 특성들, 방법/공정 단계들 또는 제한들) 단독의 존재를 표시하기 위해 사용된다.

[0064] A. 서론

[0065] 자가포식은 성분이 세포 내에서 분해되는 메카니즘 중 하나이다. 이는 세포질에 존재하는 성분이 소화 소기관인 자가포식소체 (리소솜)로 이동하여 분해되는 시스템에 대한 포괄적 용어이다. 자가포식의 유도는 염증을 억제하고, 병원체에 의한 감염에 대해 방어하고, 다르게는 자가포식의 공지된 효과, 예컨대 소기관 분해, 세포내 정제, 및 항원 제시를 통해 매우 다양한 질환 및 장애를 예방 및 치료할 수 있는 것으로 여겨진다.

[0066] 자가포식은 CNS 질환 및 장애에서 소정의 역할을 하는 것으로 생각된다. 건강한 유기체에서, 자가포식은 CNS에서 구성적으로 활성화로, 응집체의 축적을 방지하고, 에너지 요구를 충족시키고, 뉴런 가소성을 지지한다. 즉, 자가포식은 신경보호 역할을 가져서, 세포 생존을 촉진하고 신경변성에 대해 보호하는 것으로 밝혀졌다 (Puyal et al., Neuroscientist. 2012 Jun; 18(3):224-36). 자가포식 또는 다른 단백질 분해 시스템이 적절하게 기능하지 않는 경우에, 뉴런은 결함있는 또는 돌연변이체 단백질을 축적하기 시작하며, 이는 독성 세포 손상 및 세포 사멸로 이어지고, 궁극적으로 신경변성을 발생시킨다.

[0067] 본원에 제공된 바와 같이, 면역억제제 (예를 들어, 라파마이신)를 포함하는 합성 나노담체의 투여는 투여되는 경우에 자가포식을 유도하는 것으로 밝혀졌다. 본원에 기재된 바와 같이, 본 발명자들은 놀랍게도 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체를 포함하는 조성물이 자가포식을 증가시킬 수 있다는 것을 발견하였으며, 이는 질환의 마우스 모델에서 예방 및 치료 효과를 입증하였다.

[0068] 따라서, 예를 들어 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체를 투여함으로써 자가포식-연관 질환 또는 장애를 갖는 대상체를 치료하기 위한 방법 및 관련 조성물이 본원에 제공된다. 본원에 입증된 바와 같이, 이러한 방법 및 조성물은 예컨대 간 질환 모델에서 자가포식 증가와 일치하는 바이오마커를 변경시키는 것으로 밝혀졌다. 상기 조성물은 다른 요법의 부재 하에 투여되는 경우에 효과적일 수 있거나, 또는 다른 요법과 조합되어 본원에 제공된 바와 같이 효과적일 수 있다. 본원에 기재된 조성물은 또한 심지어 병용으로 투여되지 않는 경우에도, 기존 요법, 예컨대 유전자 요법을 보완하는데 유용할 수 있다.

[0069] 본원에 제공된 바와 같이, 또한 놀랍게도 면역억제제 (예를 들어, 라파마이신)를 포함하는 합성 나노담체의 투여가 유의한 면역 효과를 가질 수 있고/거나 면역관용성 표현형을 촉진할 수 있고, 이들 효과는 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체 단독의 투여에 의해 달성될 수 있다는 것이 밝혀졌다. 이러한 효과는 심지어 항원의 병용 투여의 부재 하에서도 일어날 수 있다. 따라서, 자가면역 질환 또는 장애를 치료하기 위한, 기관 또는 조직 이식 (예를 들어, 실패 및/또는 거부)과 연관된 질환 또는 장애 또는 상태를 갖는 대상체를 치료하기 위한, NF- κ B-매개 염증을 감소시키고/거나 관련 질환 또는 장애를 치료하기 위한, PD-L1/PD-1을 상향조절하고/거나 MHC 부류-II/CD80/CD86을 하향조절하고/거나 관련 질환 또는 장애를 치료하기 위한, 및 이중 음성 T 세포를 증진시키고/거나 관련 질환 또는 장애를 치료하기 위한 방법 및 관련 조성물이 본원에 제공된다.

[0070] 본원에 제공된 방법 및 조성물은 연관된 면역 반응의 수준을 예방하거나 감소시킬 수 있다. 상기 조성물은 다른 요법의 부재 하에 투여되는 경우에 효과적일 수 있거나, 또는 다른 요법과 조합되어 본원에 제공된 바와 같이 효과적일 수 있다. 본원에 기재된 조성물은 또한 심지어 병용으로 투여되지 않는 경우에도, 기존 요법을 보완하는데 유용할 수 있다.

[0071] 본 발명은 지금부터 하기에서 보다 상세하게 기재될 것이다.

[0072] B. 정의

[0073] "투여하는" 또는 "투여" 또는 "투여하다"는 대상체에서 약리학적 결과가 존재하도록 하는 방식으로 대상체에게 물질을 제공하는 것을 의미한다. 이는 예컨대 또 다른 임상의를 비롯한 또 다른 대상체 또는 대상체 자체가 투여를 수행하도록 유도 또는 지시하는 것에 의하는 직접 또는 간접 투여일 수 있다.

[0074] 대상체에게 투여하기 위한 조성물 또는 용량과 관련하여 "유효한 양"은 대상체에서 1종 이상의 목적하는 반응, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 자가포식의 유도 또는 증가, 면역 반응의 조정, 또는 관련 질환 또는 장애 또는 상태의 예방 또는 치료를 발생시키는 조성물 또는 용량의 양을 지칭한다. 따라서, 일부 실시양태에서, 유효한 양은 본원에 제공된 바와 같은 목적하는 치료 효과 및/또는 반응 중 1종 이상을 발생시키는 본원에 제공된 조성물 또는 용량의 임의의 양이다. 이러한 양은 시험관내 또는 생체내 목적을 위한 것일 수 있다. 생체내 목적을 위한 양은 그를 필요로 하는 대상체에 대해 임상 이익을 가질 수 있을 것으로 임상의가 믿는 양일 수

있다. 본원에 제공된 바와 같은 조성물 또는 용량, 예컨대 표지 용량 중 어느 하나는 유효한 양으로 존재할 수 있다.

[0075] 유효한 양은 바람직하지 않은 반응의 수준을 감소시키는 것을 수반할 수 있지만, 일부 실시양태에서, 이는 바람직하지 않은 반응을 완전히 예방하는 것을 수반한다. 유효한 양은 또한, 바람직하지 않은 반응의 발생을 지연시키는 것을 수반할 수 있다. 유효한 양은 또한 목적하는 치료 종점 또는 목적하는 반응 또는 결과를 생성하는 양일 수 있다. 다른 실시양태에서, 유효한 양은 목적하는 반응, 예컨대 치료 종점 또는 결과의 수준을 증진시키는 것을 수반할 수 있다. 유효한 양은, 바람직하게는, 본원에 제공된 대상체 중 어느 하나에서 질환 또는 장애 또는 상태와 관련하여 예방 결과 또는 치료 결과 또는 종점을 발생시킨다. 상기 중 임의의 것의 달성은 상용 방법에 의해 모니터링될 수 있다.

[0076] 유효한 양은 물론, 치료될 특정한 대상체; 상태, 질환 또는 장애의 중증도; 연령, 신체 조건, 크기 및 체중을 포함한 개별 환자 파라미터; 치료 지속기간; (존재하는 경우) 공동 요법의 성질; 구체적 투여 경로; 및 건강 진료의 지식 및 전문성 내의 기타 인자에 좌우될 것이다. 이들 인자는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지되어 있고, 상용 실험만으로 해결될 수 있다. 일반적으로, 최대 용량, 즉 타당한 의학적 판단에 따른 최고의 안전한 용량이 사용되는 것이 바람직하다. 그러나, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 환자가 의학적 이유, 심리적 이유 또는 사실상 임의의 다른 이유로 보다 낮은 용량 또는 내약성 있는 용량을 고집할 수 있음을 이해할 것이다.

[0077] "APC 제시가능한 항원"은 면역계의 세포에 의한 인식을 위해 제시될 수 있는, 예컨대 수지상 세포, B 세포 또는 대식세포를 포함하나 이에 제한되지는 않는 항원 제시 세포에 의해 제시될 수 있는 항원을 의미한다. APC 제시가능한 항원은 세포에 의한 인식, 예컨대 T 세포에 의한 인식을 위해 제시될 수 있다. 이러한 항원은 부류 I 또는 부류 II 주요 조직적합성 복합체 분자 (MHC)에 결합되거나 또는 CD1 복합체에 결합된 항원 또는 그의 부분의 제시를 통해 T 세포에 의해 인식되고 T 세포에서 면역 반응을 촉발한다.

[0078] "치료 또는 반응의 평가"는 시험관내 또는 생체내 치료 또는 반응의 수준, 존재 또는 부재, 감소, 증가 등의 임의의 측정 또는 결정을 지칭한다. 이러한 측정 또는 결정은 대상체로부터 수득된 하나 이상의 샘플에 대해 수행될 수 있다. 이러한 평가는 본원에 제공되거나 또는 달리 관련 기술분야에 공지된 방법 중 임의의 것에 의해 수행될 수 있다. 평가는 본원에 제공되거나 관련 기술분야에 달리 공지된 바이오마커 중 어느 하나 이상을 평가하고/거나 신경학적 시험, 신경심리학적 시험, 생검, 및/또는 뇌 영상화의 사용을 통해 평가하는 것일 수 있다. 예를 들어, 평가는 자가포식의 어느 하나 이상의 마커 또는 본원에 제공되거나 관련 기술분야에 달리 공지된 자가포식-연관 질환 또는 장애 또는 상태 중 어느 하나를 평가하는 것일 수 있다. 한 실시양태에서, 마커(들)는 간 질환/부전, 염증, 신장 질환/부전, 심혈관 질환/부전, 또는 당뇨병 등의 것일 수 있다. 한 실시양태에서, 마커(들)는 알츠하이머병, 헌팅톤병, 파킨슨병, 근위축성 측삭 경화증 (ALS) 등의 것일 수 있다. 알츠하이머병과 관련하여, 평가는 자기 공명 영상화 (MRI), 컴퓨터 단층촬영 (CT), 양전자 방출 단층촬영 (PET), 정신 상태 시험, 신경심리학적 시험, 또는 그의 조합을 포함할 수 있다. 헌팅톤병의 경우, 평가는 신경학적 시험, 신경심리학적 시험, 정신과적 평가, MRI 스캔, CT 스캔, 또는 그의 조합을 포함할 수 있다. 파킨슨병과 관련하여, 평가는 운동 기능 시험, MRI 스캔, PET 스캔, CT 스캔, 단일-광자 방출 컴퓨터 단층촬영 (SPECT) 스캔 (도파민 수송체 (DAT) 스캔), 또는 그의 조합을 포함할 수 있다. 마찬가지로, ALS는 신경학적 시험, 근육 및/또는 신경 생검, 경추의 척추조영상, X선 (예를 들어, MRI 스캔), 척추 천자, 전기진단 시험 (예를 들어, 근전도검사, 신경 전도 속도), 또는 그의 조합에 의해 평가될 수 있다.

[0079] 간 질환/부전과 관련하여, 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제 (AST) 수준, 알칼리성 포스파타제 (ALP), 감마-글루타밀 트랜스펩티다제 (GGT), 빌리루빈, 프로트롬빈 시간, 총 단백질, 글로불린, 프로트롬빈, 및/또는 알부민이 평가될 수 있다.

[0080] 일부 실시양태에서, 염증의 마커는 시토카인/케모카인, 면역-관련 인자, 급성기 단백질 (예를 들어, C-반응성 단백질, 혈청 아밀로이드 A), 반응성 산소 및 질소 종, 프로스타글란딘, 및 시클로옥시게나제-관련 인자 (예를 들어, 전사 인자, 성장 인자)이다.

[0081] 신 (신장) 질환 또는 장애의 경우, 크레아티닌, 우레아, 요산, 시스타틴 C, 및/또는 β -미량 단백질이 평가될 수 있다.

[0082] 일부 실시양태에서, 심혈관 질환/부전의 바이오마커는 나트륨이뇨 펩티드 (예를 들어, B형 나트륨이뇨 펩티드 (BNP), N-말단 프로-B형 나트륨이뇨 펩티드 (Nt-프로BNP) 및 중간-영역 프로-심방 나트륨이뇨 펩티드 (MR-프로

ANP)) 및/또는 심장 트로포닌일 수 있다.

[0083] 감염성 질환에 대한 바이오마커는 총 백혈구 계수, 절대 호중구 계수, C-반응성 단백질, 및 적혈구 침강 속도를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0084] "부착하다" 또는 "부착된" 또는 "커플링하다" 또는 "커플링된" (등)은 하나의 실체 (예를 들어 모이어티)를 또 다른 것과 화학적으로 회합시키는 것을 의미한다. 일부 실시양태에서, 부착은 공유적이며, 이는 부착이 2개의 실체 사이의 공유 결합의 존재의 맥락에서 일어난다는 것을 의미한다. 비-공유 실시양태에서, 비-공유 부착은 전하 상호작용, 친화도 상호작용, 금속 배위, 물리적 흡착, 호스트-게스트 상호작용, 소수성 상호작용, TT 스택킹 상호작용, 수소 결합 상호작용, 반 데르 발스 상호작용, 자기적 상호작용, 정전기적 상호작용, 쌍극자-쌍극자 상호작용, 및/또는 그의 조합을 포함하나 이에 제한되지는 않는 비-공유 상호작용에 의해 매개된다. 실시양태에서, 캡슐화는 부착 또는 커플링의 한 형태이다.

[0085] "자가면역 질환 또는 장애"는, 면역계의 적절한 기능이 존재하지 않는, 특히 대상체 내의 면역 세포가 그 자신의 건강한 세포를 공격하는 경우의 질환 또는 장애, 또는 면역계의 적절한 기능의 손상이 존재하는 질환 또는 장애를 지칭한다. 이는 자기-항원에 대한 면역학적 관용의 상실에 의해 촉발되는 만성 병리상태일 수 있으며, 이는 전신 또는 기관 특이적 손상을 유발할 수 있다. 일부 경우에, 자가면역 반응은 가용성 매개체 (예를 들어, 시토킨, 산화질소 등) 및 자가항체의 생산을 담당하는 자가반응성 T 및/또는 B 림프구에 의해 매개된다. 감염은 자가면역 질환 또는 장애의 원인일 수 있다. 일부 실시양태에서, 자가면역 질환 또는 장애는 무이완증, 애디슨병, 성인 스틸병, 무감마글로불린혈증, 원형 탈모증, 아밀로이드증, 강직성 척추염, 항-GBM/항-TBM 신염 항인지질 증후군, 자가면역 혈관부종, 자가면역 자율신경실조증, 자가면역 뇌척수염, 자가면역 간염, 자가면역 내이 질환 (AIED), 자가면역 심근염, 자가면역 난소염, 자가면역 고환염, 자가면역 췌장염, 자가면역 망막병증, 자가면역 두드러기, 축삭 & 뉴런 신경병증 (AMAN), 발로병, 베체트병, 양성 점막 유전포창, 수포성 유전포창, 케슬만병 (CD), 복강 질환, 샤가스병, 만성 염증성 탈수초성 다발신경병증 (CIDP), 만성 재발성 다초점성 골수염 (CRMO), 처그-스트라우스 증후군 (CSS) 또는 호산구성 육아종증 (EGPA), 반흔성 유전포창, 코간 증후군, 저온 응집소 질환, 선천성 심장 차단, 콕사키 심근염, CREST 증후군, 크론병, 포진성 피부염, 피부근염, 데빅병 (시신경척수염), 원판상 루푸스, 드레슬러 증후군, 자궁내막증, 호산구성 식도염 (EoE), 호산구성 근막염, 결절성 홍반, 본태성 혼합 한랭글로불린혈증, 에반스 증후군, 섬유근육통, 섬유화 폐포염, 거대 세포 동맥염 (측두 동맥염), 거대 세포 심근염, 사구체신염, 굿패스처 증후군, 다발혈관염 동반 육아종증, 그레이브스병, 길랑-바레 증후군, 하시모토 갑상선염, 용혈성 빈혈, 헤노흐-셴라인 자반증 (HSP), 임신성 포진 또는 임신성 유전포창 (PG), 화농성 한선염 (HS) (아크네 인버사), 저감마글로불린혈증, IgA 신병증, IgG4-관련 경화성 질환, 면역 혈소판감소성 자반증 (ITP), 봉입체 근염 (IBM), 간질성 방광염 (IC), 소아 관절염, 소아 당뇨병 (제1형 당뇨병), 소아 근염 (JM), 가와사키병, 램버트-이튼 증후군, 백혈구과괴성 혈관염, 편평 태선, 경화성 태선, 목질 결막염, 선상 IgA 질환 (LAD), 루푸스, 만성 라임병, 메니에르병, 현미경적 다발혈관염 (MPA), 혼합 결합 조직 질환 (MCTD), 무렌 케양, 뮌셔-하버만병, 다초점성 운동 신경병증 (MMN) 또는 MMNCB, 다발성 경화증, 중증 근무력증, 근염, 기면증, 네오나탈 루푸스, 시신경척수염, 호중구감소증, 안구 반흔성 유전포창, 시신경염, 회귀성 류마티즘 (PR), PANDAS, 부신생물성 소뇌 변성 (PCD), 발작성 야간 혈색소뇨 (PNH), 패리 롬버그 증후군, 주변부 포도막염 (말초 포도막염), 파소네지-터너 증후군, 천포창, 말초 신경병증, 정맥주위 뇌척수염, 악성 빈혈 (PA), POEMS 증후군, 결절성 다발동맥염, 다선성 증후군 유형 I, II, III, 다발근육통 류마티스성, 다발근염, 심근경색후 증후군, 심막절개술후 증후군, 원발성 담즙성 간경변증, 원발성 경화성 담관염, 프로게스테론 피부염, 건선, 건선성 관절염, 순수 적혈구 무형성증 (PRCA), 피저성 농피증, 레이노 현상, 반응성 관절염, 반사 교감신경 이영양증, 재발성 다발연골염, 하지 불안 증후군 (RLS), 복막후 섬유증, 류마티스성 열, 류마티스 관절염, 사르코이드증, 슈미트 증후군, 공막염, 경피증, 쇼그렌 증후군, 정자 & 고환 자가면역, 강직 인간 증후군 (SPS), 아급성 박테리아 심내막염 (SBE), 스삭 증후군, 교감신경성 안염 (SO), 다카야스 동맥염, 측두 동맥염/거대 세포 동맥염, 혈소판감소성 자반증 (TTP), 톨로사-헌트 증후군 (THS), 황단성 척수염, 제1형 당뇨병, 케양성 결장염 (UC), 미분화 결합 조직 질환 (UCTD), 포도막염, 혈관염, 백반증, 및 보그트-코야나기-하라다병을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0086] "자가포식-연관 질환" 또는 "자가포식-연관 장애"는 자가포식 또는 세포 자기-소화의 교란에 의해 유발되거나 또는 자가포식의 유도 또는 증가로부터 이익을 얻을 질환 또는 장애를 지칭한다. 자가포식 기능장애는 특히 신경변성 질환, 감염성 질환, 및 노화의 증상을 비롯한 다수의 질환 및 장애와 연관된 것으로 밝혀졌다. 예시적인 비제한적 자가포식-연관 질환 또는 장애는 리소솜 축적 질환, 신경변성 질환 (예를 들어, 알츠하이머병, 파킨슨병, 헌팅톤병; 다른 운동실조), 만성 염증성 질환 (예를 들어, 염증성 장 질환, 크론병, 류마티스 관절염,

루푸스, 다발성 경화증, 만성 폐쇄성 폐 질환/COPD, 폐 섬유증, 낭성 섬유증, 쇼그렌병; 고혈당 장애, 당뇨병 (I 및 II) (예를 들어, 중증 인슐린 저항성, 고인슐린혈증, 인슐린-저항성 당뇨병 덴턴홀 증후군, 베르너 증후군, 요정증, 및 지방위축성 당뇨병), 이상지혈증 (예를 들어 고지혈증, 상승된 저밀도 지단백질 (LDL), 저하된 고밀도 지단백질 (HDL), 상승된 트리글리세리드), 대사 증후군, 간 질환, 신질환 (예를 들어, 플라크, 사구체 질환), 심혈관 질환 (예를 들어, 허혈, 졸중, 압력 과부하 및 재관류 동안의 합병증), 근육 변성 및 위축, 노화 증상 (예를 들어, 근육 위축, 노쇠, 대사 장애, 저등급 염증, 아테롬성동맥경화증 졸중, 연령-연관 치매, 알츠하이머병, 및 우울증을 포함한 정신 상태), 졸중, 척수 손상, 동맥경화증, 감염성 질환 (예를 들어, 박테리아, 진균, 세포, 바이러스 감염), 발생 (예를 들어, 적혈구 분화), 및 배아발생/가임성/불임을 포함한다.

[0087] "평균"은 달리 나타내지 않는 한 평균값을 지칭한다.

[0088] "병용으로"는 제1 조성물 (예를 들어, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체)이 제2 조성물에 대한 효과를 갖도록, 예컨대 제2 조성물의 효능을 증가시키도록 시간상 상관된, 바람직하게는 시간상 충분히 상관된 방식으로 2종 이상의 물질/작용제를 대상체에게 투여하는 것을 의미하며, 바람직하게는 2종 이상의 물질/작용제는 조합되어 투여된다. 실시양태에서, 병용 투여는 명시된 기간 내의 2종 이상의 조성물의 투여를 포괄할 수 있다. 일부 실시양태에서, 2종 이상의 조성물은 1개월 내에, 1주 내에, 1일 내에, 또는 1시간 내에 투여된다. 일부 실시양태에서, 병용 투여는 2종 이상의 조성물의 동시 투여를 포괄한다. 일부 실시양태에서, 2종 이상의 조성물이 병용으로 투여되지 않는 경우에, 제2 조성물에 대한 제1 조성물 (예를 들어, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체)의 효과는 거의 내지 전혀 없다. 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 본원에 제공된 목적을 위한 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 제2 조성물, 예컨대 상이한 치료제, 예컨대 치료 거대분자, 바이러스 벡터, APC 제시가능한 항원 등에 영향을 미치지도록 투여되지 않는다.

[0089] "기관 또는 조직 이식과 연관된 질환 또는 장애"는 이식된 기관 또는 조직의 수용 또는 적절한 기능을 방해하고/거나 이식된 기관 또는 조직의 기능 정지를 유발하는 질환 또는 장애, 뿐만 아니라 기관 또는 조직 이식의 결과로서 수용자, 예컨대 수용자의 세포 또는 조직에 대한 임의의 원치 않는 손상을 지칭한다. 상기의 기저 원인은 이식된 기관 또는 조직의 결과로서 또는 이에 대한 반응에서 바람직하지 않은 면역 반응을 포함할 수 있으나 이에 제한되지는 않는다. 기관 또는 조직 이식과 연관된 질환 또는 장애는 이식 거부, 이식편 기능장애, 기관 부전, 및 GVHD를 포함할 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, "이식 거부"는 급성 및 만성 이식 거부 둘 다를 포괄한다. "급성 거부"는 이식된 조직이 면역학적으로 외래인 경우에 조직 이식 수용자의 면역계에 의한 거부이다. 급성 거부는 수용자의 면역 세포에 의한 이식된 조직의 침윤을 특징으로 할 수 있으며, 이는 그의 이펙터 기능을 수행하고 이식된 조직을 파괴한다. 급성 거부의 발생은 신속하고, 일반적으로 인간에서 이식 수술 후 수주 내에 발생한다. 일부 실시양태에서, "만성 이식 거부"는 일반적으로 인간에서 생착 후 수개월 내지 수년 내에, 심지어 급성 거부의 성공적인 면역억제의 존재 하에 발생한다. 섬유증은 모든 유형의 기관 이식의 만성 거부에서 흔한 인자이다. 만성 거부는 전형적으로 특정한 기관의 특징인 특정 장애의 범위에 의해 기재될 수 있다. 일부 실시양태에서, 이식 거부는 "초급성 거부"일 수 있고, 이는 항원이 완전히 매칭되지 않을 때 이식 수분 후에 발생할 수 있다. 예를 들어, 이러한 유형의 거부는 수용자에게 잘못된 혈액형이 주어지는 경우에 관찰될 수 있다. 이식 기관, 조직 또는 세포(들)는 동종 또는 이종일 수 있어서, 이식편은 동종이식편 또는 이종이식편일 수 있다. 이식 이식편은 임의의 고형 기관, 조직, 예컨대 피부 등일 수 있다. 기관 이식의 예는 신장 이식, 췌장 이식, 간 이식, 심장 이식, 폐 이식, 장 이식, 신장 이식 후 췌장 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0090] "투여 형태"는 대상체에게 투여하기에 적합한 매질, 담체, 비히클, 또는 장치 내의 약리학적 및/또는 면역학적 활성 물질을 의미한다. 본원에 제공된 조성물 또는 용량 중 어느 하나는 투여 형태일 수 있다.

[0091] "용량"은 주어진 시간 동안 대상체에게 투여하기 위한 약리학적 및/또는 면역학적 활성 물질의 구체적 양을 지칭한다. 달리 명시되지 않는 한, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체를 포함하는 조성물에 대해 언급된 용량은 면역억제제의 중량 (즉, 합성 나노담체 물질의 중량 없음)을 지칭한다. 투여를 위한 용량을 지칭하는 경우에, 본원에 제공된 방법, 조성물 또는 키트 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 본원에 제공된 용량 중 어느 하나는 라벨/라벨 용량 상에 제시된 바와 같은 용량이다.

[0092] "캡슐화하다"는 물질의 적어도 일부를 합성 나노담체 내에 봉입하는 것을 의미한다. 일부 실시양태에서, 물질은 합성 나노담체 내에 완전히 봉입된다. 다른 실시양태에서, 캡슐화된 물질의 대부분 또는 모두는 합성 나노담체 외부의 국부 환경에 노출되지 않는다. 다른 실시양태에서, 50%, 40%, 30%, 20%, 10% 또는 5% (중량/중량) 이하가 국부 환경에 노출된다. 캡슐화는, 물질의 대부분 또는 모두를 합성 나노담체의 표면 상에 위치시키고

물질을 합성 나노담체 외부의 국부 환경에 노출된 채로 두는 흡수와 구별된다. 본원에 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 실시양태에서, 면역억제제는 합성 나노담체 내에 캡슐화된다.

[0093] "대상체를 확인하는 것"은 임상의가 대상체를 본원에 제공된 방법 또는 조성물 또는 제공된 바와 같은 일부 다른 지표로부터 이익을 얻을 수 있는 대상체로서 인식하도록 하는 임의의 활동 또는 일련의 활동이다. 일부 실시양태에서, 확인된 대상체는 자가포식 유도 또는 증가 또는 자가포식-연관 질환 또는 장애에 대한 예방적 또는 치유적 치료가 필요한 대상체이다. 이러한 대상체는 자가포식-연관 질환 또는 장애를 갖거나 또는 가질 위험이 있는 임의의 대상체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 대상체는 증상 (및/또는 그의 결여), 행동 패턴 (예를 들어, 대상체를 위험에 처하게 할 것)에 기초하여, 및/또는 본원에 기재된 1종 이상의 시험 (예를 들어, 바이오마커 검정, 영상화 연구)에 기초하여 자가포식-연관 질환 또는 장애를 갖는 것으로 의심되거나 또는 가질 가능성 또는 위험을 갖는 것으로 결정된다.

[0094] 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 일부 실시양태에서, 대상체는 이식된 기관 또는 조직에 대한 감소되거나 약화된 면역 반응으로부터 이익을 얻을 것이거나 또는 이를 필요로 하는 것이다. 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 일부 실시양태에서, 대상체는 GVHD의 치료 또는 예방으로부터 이익을 얻을 것이거나 또는 이를 필요로 하는 것이다. 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 일부 실시양태에서, 대상체는 자가면역 질환 또는 장애의 관점에서 감소되거나 약화된 면역 반응으로부터 이익을 얻을 것이거나 또는 이를 필요로 하는 것이다. 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 일부 실시양태에서, 대상체는 NF- κ B-매개 염증의 관점에서 감소되거나 약화된 면역 반응으로부터 이익을 얻을 것이거나 또는 이를 필요로 하는 것이다. 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 일부 실시양태에서, 대상체는 1) PD-L1 및/또는 PD-1 상향조절 및/또는 2) MHC 부류-II 및/또는 CD80 및/또는 CD86 하향조절 및/또는 면역관용성 면역 반응으로부터 이익을 얻을 것이거나 또는 이를 필요로 하는 것이다. 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 일부 실시양태에서, 대상체는 이중 음성 T 세포 및/또는 면역관용성 면역 반응의 증진으로부터 이익을 얻을 것이거나 또는 이를 필요로 하는 것이다.

[0095] 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 방법은 본원에 제공된 바와 같은 조성물 또는 방법을 필요로 하는 대상체를 확인하는 것을 추가로 포함한다. 활동 또는 일련의 활동은 직접 스스로 또는 간접적으로, 예컨대 비제한적으로, 말 또는 행동에 의존하여 활동하는 비관련 제3자에 의할 수 있다.

[0096] "면역억제제"는 APC에 대한 그의 효과를 통해 면역관용성 효과를 유발할 수 있는 화합물을 의미한다. 면역관용성 효과는 일반적으로, 항원에 대한 바람직하지 않은 면역 반응을 지속적인 방식으로 감소, 억제 또는 예방하는, APC 또는 다른 면역 세포에 의한 조절을 지칭한다. 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 면역억제제는 APC가 하나 이상의 면역 이펙터 세포에서 조절 표현형의 축진을 유발하는 것이다. 예를 들어, 조절 표현형은 항원-특이적 CD4⁺ T 세포 또는 B 세포의 생산, 유도, 자극 또는 동원의 억제; 항원-특이적 항체의 생산의 억제, Treg 세포 (예를 들어, CD4⁺CD25^고FoxP3⁺ Treg 세포)의 생산, 유도, 자극 또는 동원 등으로 특징화될 수 있다. 이는 CD4⁺ T 세포 또는 B 세포가 조절 표현형으로 전환된 것의 결과일 수 있다. 이는 또한, FoxP3이 다른 면역 세포, 예컨대 CD8⁺ T 세포, 대식세포 및 iNKT 세포에서 유도된 것의 결과일 수 있다. 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 면역억제제는 항원을 프로세싱한 후 APC의 반응에 영향을 미치는 것이다. 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 또 다른 실시양태에서, 면역억제제는 항원의 프로세싱을 방해하는 것이 아니다. 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 추가 실시양태에서, 면역억제제는 아포토시스-신호전달 분자가 아니다. 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 또 다른 실시양태에서, 면역억제제는 인지질이 아니다.

[0097] 면역억제제는 mTOR 억제제, 예컨대 라파마이신 또는 라파마이신 유사체 (즉, 라파로그); TGF- β 신호전달 작용제; TGF- β 수용체 효능제; 히스톤 데아세틸라제 억제제, 예컨대 트리코스타틴 A; 코르티코스테로이드; 미토콘드리아 기능 억제제, 예컨대 로테논; P38 억제제; NF- κ B 억제제, 예컨대 6Bio, 텍사메타손, TCPA-1, IKK VII; 아데노신 수용체 효능제; 프로스타글란딘 E2 효능제 (PGE2), 예컨대 미소프로스톨; 포스포디에스테라제 억제제, 예컨대 포스포디에스테라제4 억제제 (PDE4), 예컨대 롤리프람; 프로테아솜 억제제; 키나제 억제제 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 본원에 사용된 "라파로그"는 라파마이신과 구조적으로 관련된 (유사체) 분자 (시롤리무스)를 지칭한다. 라파로그의 예는, 비제한적으로, 템시롤리무스 (CCI-779), 에베롤리무스 (RAD001), 리다포롤리무스 (AP-23573), 및 조타롤리무스 (ABT-578)를 포함한다. 라파로그의 추가의 예는, 예를 들어 WO 공개 WO 1998/002441 및 미국 특허 번호 8,455,510에서 확인할 수 있고, 그의 라파로그는 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 추가의 면역억제제가 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있고, 본 발명은 이러한 측면으로 제한되지 않는다.

- [0098] 실시양태에서, 합성 나노담체에 커플링된 경우에, 면역억제제는 합성 나노담체의 구조를 구성하는 물질에 부가적인 요소이다. 예를 들어, 하나의 이러한 실시양태에서, 합성 나노담체가 하나 이상의 중합체로 구성되는 경우에, 면역억제제는 하나 이상의 중합체에 부가적이고 커플링되어 있는 화합물이다. 또 다른 예로서, 하나의 이러한 실시양태에서, 합성 나노담체가 하나 이상의 지질로 구성되는 경우에, 면역억제제는 또한 하나 이상의 지질에 부가적이고 커플링되어 있다.
- [0099] "자가포식을 증가시키는 것" 등은 대조군에 비해 대상체에서 자가포식 수준을 증가시키는 것을 의미한다. 일부 실시양태에서, 자가포식은 대조군에 비해 증가되고, 예를 들어 적어도 20-40%, 보다 바람직하게는 적어도 50-75%, 가장 바람직하게는 80% 초과로 증가된다. 바람직하게는, 증가는 적어도 2-배이다. 일부 실시양태에서, 대조군은 시간 상 이전 기간 (예를 들어, 진단 전 또는 치료 전) 동일한 대상체로부터의 (예를 들어, 간으로부터의) 자가포식 활성이다. 일부 실시양태에서, 대조군 자가포식 수준은 동일한 자가포식-연관 질환 또는 장애를 갖는 비처리 대상체로부터의 것이다. 일부 실시양태에서, 대조군은 동일한 자가포식-연관 질환 또는 장애를 갖는 비처리 대상체 집단에서의 자가포식의 평균 수준이다.
- [0100] 일부 실시양태에서, 자가포식을 증가시키는 것은 자가포식의 1종 이상의 마커의 수준을 조정하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 마커는 대조군에 비해 적어도 20-40%, 보다 바람직하게는 적어도 50-75%, 가장 바람직하게는 80% 초과로 증가 또는 감소된다. 바람직하게는, 증가 또는 감소는 적어도 2-배이다. "자가포식 마커"는 통상적으로 대상체에서 (예를 들어, 대상체의 간 또는 CNS에서) 자가포식을 나타내는 것이다. 이는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 방법에 의해, 예컨대 대상체로부터의 세포, 조직 또는 체액에서, 특히 간 생검으로부터 또는 대상체의 혈청 또는 혈장 또는 뇌척수에서 결정될 수 있다. 자가포식의 마커는, 예를 들어 LC3II, p26, ATG7, 베클린1, LAMP-2, 및 ATG5를 포함한다.
- [0101] "로드"는, 합성 나노담체에 커플링된 경우에, 전체 합성 나노담체 내의 물질의 총 건조 레시피 중량에 기초한 합성 나노담체에 커플링된 면역억제제의 양 (중량/중량)이다. 일반적으로, 이러한 로드는 합성 나노담체의 집단에 걸친 평균으로서 계산된다. 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 합성 나노담체에 걸친 평균 로드는 0.1% 내지 50%이다. 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 또 다른 것에서, 합성 나노담체에 걸친 평균 로드는 4%, 5%, 6%, 7%, 8% 또는 9% 내지 40% 또는 4%, 5%, 6%, 7%, 8% 또는 9% 내지 30%이다. 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 또 다른 것에서, 합성 나노담체에 걸친 평균 로드는 10% 내지 40% 또는 10% 내지 30%이다. 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 또 다른 실시양태에서, 로드는 0.1% 내지 20%이다. 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 추가 실시양태에서, 로드는 0.1% 내지 10%이다. 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 추가 실시양태에서, 로드는 1% 내지 10%이다. 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 추가 실시양태에서, 로드는 7% 내지 20%이다. 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 또 다른 실시양태에서, 로드는 합성 나노담체의 집단에 걸친 평균으로 적어도 0.1%, 적어도 0.2%, 적어도 0.3%, 적어도 0.4%, 적어도 0.5%, 적어도 0.6%, 적어도 0.7%, 적어도 0.8%, 적어도 0.9%, 적어도 1%, 적어도 2%, 적어도 3%, 적어도 4%, 적어도 5%, 적어도 6%, 적어도 적어도 7%, 적어도 8%, 적어도 9%, 적어도 10%, 적어도 11%, 적어도 12%, 적어도 13%, 적어도 14%, 적어도 15%, 적어도 16%, 적어도 17%, 적어도 18%, 적어도 19% 적어도 20%, 적어도 21%, 적어도 22%, 적어도 23%, 적어도 24%, 적어도 25%, 적어도 26%, 적어도 27%, 적어도 28%, 적어도 29% 또는 적어도 30%이다. 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 추가 실시양태에서, 로드는 합성 나노담체의 집단에 걸친 평균으로 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%, 0.6%, 0.7%, 0.8%, 0.9%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29% 또는 30%이다. 상기 실시양태 중 어느 하나의 일부 실시양태에서, 로드는 합성 나노담체의 집단에 걸친 평균으로 35%, 30% 또는 25% 이하이다. 본원에 제공된 방법, 조성물 또는 키트 중 어느 하나에서, 면역억제제, 예컨대 라파마이신의 로드는 본원에 제공된 로드 중 어느 하나일 수 있다. 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 실시양태에서, 로드는 관련 기술분야에 공지되어 있는 바와 같이 계산된다.
- [0102] 일부 실시양태에서, 현탁액 중 나노담체의 면역억제제 로드는 시험 물품의 HPLC 분석에 의해 결정된 바와 같은 나노담체의 면역억제제 함량을 나노담체 질량으로 나눔으로써 계산된다. 총 중합체 함량은 건조 나노담체 질량의 중량측정 수율에 의해 또는 약전 방법에 따른 나노담체 용액 총 유기 함량의 결정에 의해 측정되고, PVA 함량에 대해 보정된다.
- [0103] "합성 나노담체의 최대 치수"는 합성 나노담체의 임의의 축을 따라 측정된 나노담체의 가장 큰 치수를 의미한다. "합성 나노담체의 최소 치수"는 합성 나노담체의 임의의 축을 따라 측정된 합성 나노담체의 가장 작은 치수를 의미한다. 예를 들어, 구형 합성 나노담체의 경우에, 합성 나노담체의 최대 및 최소 치수는 실질적으로 동일할 것이고, 그의 직경의 크기일 것이다. 유사하게, 입방형 합성 나노담체의 경우에, 합성 나노담체의

최소 치수는 그의 높이, 폭 또는 길이 중 가장 작은 것일 것인 한편, 합성 나노담체의 최대 치수는 그의 높이, 폭 또는 길이 중 가장 큰 것일 것이다. 한 실시양태에서, 샘플 내 합성 나노담체의 총수에 기초한 샘플 내 합성 나노담체의 적어도 75%, 바람직하게는 적어도 80%, 보다 바람직하게는 적어도 90%의 최소 치수는 100 nm 이상이다. 한 실시양태에서, 샘플 내 합성 나노담체의 총수에 기초한 샘플 내 합성 나노담체의 적어도 75%, 바람직하게는 적어도 80%, 보다 바람직하게는 적어도 90%의 최대 치수는 5 μm 이하이다. 바람직하게는, 샘플 내 합성 나노담체의 총수에 기초한 샘플 내 합성 나노담체의 적어도 75%, 바람직하게는 적어도 80%, 보다 바람직하게는 적어도 90%의 최소 치수는 110 nm 초과, 보다 바람직하게는 120 nm 초과, 보다 바람직하게는 130 nm 초과, 및 보다 더 바람직하게는 150 nm 초과이다. 본 발명의 합성 나노담체의 최대 및 최소 치수의 중형비는 실시양태에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 합성 나노담체의 최대 대 최소 치수의 중형비는 1:1 내지 1,000,000:1, 바람직하게는 1:1 내지 100,000:1, 보다 바람직하게는 1:1 내지 10,000:1, 보다 바람직하게는 1:1 내지 1000:1, 보다 더 바람직하게는 1:1 내지 100:1, 및 보다 더 바람직하게는 1:1 내지 10:1로 달라질 수 있다.

[0104] 바람직하게는, 샘플 내 합성 나노담체의 총수에 기초한 샘플 내 합성 나노담체의 적어도 75%, 바람직하게는 적어도 80%, 보다 바람직하게는 적어도 90%의 최대 치수는 3 μm 이하, 보다 바람직하게는 2 μm 이하, 보다 바람직하게는 1 μm 이하, 보다 바람직하게는 800 nm 이하, 보다 바람직하게는 600 nm 이하, 및 보다 더 바람직하게는 500 nm 이하이다. 바람직한 실시양태에서, 샘플 내 합성 나노담체의 총수에 기초한 샘플 내 합성 나노담체의 적어도 75%, 바람직하게는 적어도 80%, 보다 바람직하게는 적어도 90%의 최소 치수는 100nm 이상, 보다 바람직하게는 120 nm 이상, 보다 바람직하게는 130 nm 이상, 보다 바람직하게는 140 nm 이상, 및 보다 더 바람직하게는 150 nm 이상이다. 합성 나노담체 치수 (예를 들어, 직경)의 측정은 합성 나노담체를 액체 (통상적으로 수성) 매질에 현탁시키고 동적 광 산란 (DLS) (예를 들어, 브룩헤븐 제타팔스(Brookhaven ZetaPALS) 기기를 사용함)을 사용함으로써 취득할 수 있다. 예를 들어, 합성 나노담체의 현탁액을 수성 완충제로부터 정제수 내로 희석시켜 대략 0.01 내지 0.1 mg/mL의 최종 합성 나노담체 현탁액 농도를 달성할 수 있다. 희석된 현탁액은 내부에서 직접 제조되거나, 또는 DLS 분석에 적합한 큐벳으로 옮겨질 수 있다. 이어서, 큐벳을 DLS에 두고, 제어 온도로 평형이 되도록 한 다음, 충분한 시간 동안 스캐닝하여 매질의 점도 및 샘플의 굴절률에 대한 적절한 입력에 기초하여 안정하고 재현가능한 분포를 획득할 수 있다. 이어서, 유효 직경, 또는 분포의 평균을 보고할 수 있다. 합성 나노담체의 "치수" 또는 "크기" 또는 "직경"은, 일부 실시양태에서, 동적 광 산란을 사용하여 취득된 입자 크기 분포의 평균을 의미한다.

[0105] "신경변성 질환" 또는 "신경변성 장애" (또는 "CNS 질환" 또는 "CNS 장애")는 일반적으로 운동 뉴런의 손상 또는 파괴에 의해 유발되는 질환 또는 장애를 지칭한다. 신경변성 질환은 알츠하이머병 및 그의 전구 경도 인지 장애 (MCI), 파킨슨병 (파킨슨병 치매 포함), 헌팅톤병, 근위축성 측삭 경화증 (ALS), 다발성 경화증, 부신백질 이영양증, AIDS 치매 복합증, 알렉산더병, 알파병, 모세혈관확장성 운동실조, 배튼병, 소 해면상 뇌병증, 카나반병, 뇌 아밀로이드 혈관병증, 소뇌 운동실조, 코케인 증후군, 피질기저 변성, 크로이츠펔트-야콥병, 미만성 수초탈락성 경화증, 치명적 가족성 불면증, 파지오-론데병, 프리드라이히 운동실조, 전두측두엽 치매 또는 엽 변성, 유전성 경직성 하반신마비, 케네디병, 크라베병, 루이 소체 치매, 라임병, 마차도-요셉병, 운동 뉴런 질환, 다계통 위축, 신경유극적혈구증가증, 니만-픽병, 펠리제우스-메르츠바허병, 픽병, 그의 소아형을 포함한 원발성 측삭 경화증, 진행성 연수 마비, 진행성 핵상 마비, 그의 영아형을 포함한 레프숨병, 샌드호프병, 쉼터병, 척수성 근육 위축, 척수소뇌성 운동실조, 스틸-리차드슨-울스제위스키병, 척수의 아급성 연합 변성, 생존 운동 뉴런 척수성 근육 위축, 척수로, 테이-삭스병, 독성 뇌병증, 전염성 해면상 뇌병증, 혈관성 치매 및 X연관 척수성 근육 위축을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 질환은 특발성 또는 잠재성 질환, 예를 들어: 시뉴클레인병증, 프로그래놀린병증, 타우병증, 아밀로이드 질환, 프리온 질환, 단백질 응집 질환, 및 운동 장애이다.

[0106] "NF- κ B-매개 염증"은 핵 인자- κ B (NF- κ B)에 의해 조절되는 면역 및/또는 염증 반응을 지칭한다. NF- κ B는 NF- κ B1 (또한 p50으로도 명명됨), NF- κ B2 (또한 p52로도 명명됨), RelA (또한 p65로도 명명됨), RelB 및 c-Rel을 포함한, 적어도 5종의 구조적으로 관련된 구성원으로 구성된 유도성 전사 인자의 패밀리를 나타낸다. 일부 실시양태에서, NF- κ B의 활성화는 2가지 주요 신호전달 경로, 정규 및 비정규 (또는 대안적) 경로를 수반한다. 정규 NF- κ B 경로는 다양한 시토카인 수용체, 패턴-인식 수용체 (PRR), TNF 수용체 (TNFR) 슈퍼패밀리 구성원, 뿐만 아니라 T-세포 수용체 (TCR) 및 B-세포 수용체의 리간드를 포함한 다양한 자극에 반응한다. 정규 NF- κ B는 선천성 면역 세포에서의 시토카인 생산의 조절 및 T-세포 내인성 메카니즘 둘 다를 통해 CD4+ T-세포 분화를 조절한다. 비정규 NF- κ B 경로는 TNFR 슈퍼패밀리 구성원의 하위세트, 예컨대 LT β R, BAFFR, CD40 및 RANK의 리간드를 포함한 특정 군의 자극에 선택적으로 반응한다. 일부 실시양태에서, NF- κ B-매개 염증과 연관된 질환 및 장애는 류마티스 관절염, 아테롬성동맥경화증, 다발성 경화증, 만성 염증성 탈수초성 다발신경근신

경염, 천식, 염증성 장 질환, 헬리코박터 필로리-연관 위염, 및 전신 염증 반응 증후군을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 본원에 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나는 대상체에서 이들 질환 또는 장애 중 어느 하나를 치료 또는 예방하는데 사용될 수 있다.

[0107] "제약상 허용되는 부형제" 또는 "제약상 허용되는 담체"는 약리학적 활성 물질과 함께 조성물을 제제화하는데 사용되는 약리학적 불활성 물질을 의미한다. 제약상 허용되는 부형제는 사카라이드 (예컨대 글루코스, 락토스 등), 보존제 예컨대 항미생물제, 재구성 보조제, 착색제, 염수 (예컨대 포스페이트 완충 염수), 및 완충제를 포함하나 이에 제한되지는 않는 관련 기술분야에 공지된 다양한 물질을 포함한다. 본원에 제공된 조성물 중 어느 하나는 제약상 허용되는 부형제 또는 담체를 포함할 수 있다.

[0108] "면역관용성 면역 효과를 촉진하는 것" 등은 관용이 촉진되도록 면역 반응의 수준을 조정하는 것, 예컨대 감소 또는 증가시키는 것을 의미한다. 면역 반응은 대조군, 예컨대 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체의 투여가 없는 면역 반응에 대해 상대적일 수 있다. 일부 실시양태에서, 면역 반응은 대조군에 비해 감소되고, 예를 들어 적어도 20-40%, 보다 바람직하게는 적어도 50-75%, 가장 바람직하게는 80% 초과로 감소된다. 바람직하게는, 감소는 적어도 2-배이다. 이론에 얽매는 것을 원하지는 않지만, 면역 반응은 MHC 부류 II 또는 CD80 또는 CD86 발현을 하향조절하거나 또는 PD-1 또는 PD-L1 발현을 상향조절함으로써 유익하게 감소될 수 있다. 일부 경우에, 면역 반응은 CD T 세포를 감소시키거나 또는 CD4 CD25 조절 T 세포, Foxp3+ T 세포, 또는 TR1 T 세포를 포함하나 이에 제한되지는 않는 조절 T 세포의 수를 증가시킴으로써 유익하게 감소될 수 있다.

[0109] "프로토콜"은 대상체에 대한 1종 이상의 물질의 임의의 투여 요법을 지칭한다. 투여 요법은 투여의 양, 빈도, 속도, 지속기간 및/또는 방식을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 이러한 프로토콜은 본 발명의 하나 이상의 조성물을 하나 이상의 시험 대상체에게 투여하는데 사용될 수 있다. 이어서, 이들 시험 대상체에서의 치료/예방 반응을 평가하여 프로토콜이 목적하는 반응을 생성하는데 효과적인지 여부를 결정할 수 있다. 프로토콜이 목적하는 효과를 갖는지 여부는 본원에 제공되거나 또는 달리 관련 기술분야에 공지된 방법 중 임의의 것을 사용하여 결정될 수 있다. 예를 들어, 세포의 집단은 특정 효소, 바이오마커 등이 생성되는지, 활성화되는지 등의 여부를 결정하기 위해 본원에 제공된 조성물이 특정 프로토콜에 따라 투여된 대상체로부터 수득될 수 있다. 바이오마커의 존재 및/또는 수를 검출하는데 유용한 방법은 유동 세포측정 방법 (예를 들어, FACS) 및 면역조직화학 방법을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 특정 바이오마커의 특이적 염색을 위한 항체 및 다른 결합체는 상업적으로 입수가능하다. 이러한 키트는 전형적으로 세포의 이중 집단으로부터 목적하는 세포 집단의 FACS-기반 검출, 분리 및/또는 정량화를 가능하게 하는 다중 항원에 대한 염색 시약을 포함한다. 본원에 제공된 방법 중 어느 하나는 프로토콜을 결정하는 단계를 포함할 수 있고/거나 투여는 본원에 제공된 바와 같은 유익한 결과 또는 목적하는 유익한 결과 중 어느 하나를 갖는 것으로 결정된 프로토콜에 기초하여 수행된다.

[0110] "대상체를 제공하는 것"은 임상의가 대상체와 접촉하여 본원에 제공된 조성물을 투여하게 하거나 또는 그에 대해 본원에 제공된 방법을 수행하게 하는 임의의 활동 또는 일련의 활동이다. 활동 또는 일련의 활동은 직접 스스로 또는 간접적으로 이루어질 수 있다. 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 방법은 대상체를 제공하는 것을 추가로 포함한다. 바람직하게는, 대상체는 본원에 제공된 반응/결과/효과 중 어느 하나 이상을 필요로 하는 것이다.

[0111] "염증을 감소시키는 것" 등은 대조군에 비해 염증 세포 (백혈구, 예를 들어 호중구)의 수 및/또는 1종 이상의 염증 마커의 수준을 감소시키는 것을 의미한다. 일부 실시양태에서, 감소는 대조군에 비해 적어도 20-40%, 보다 바람직하게는 적어도 50-75%, 가장 바람직하게는 80% 초과이다. 바람직하게는, 감소는 적어도 2-배이다. 일부 실시양태에서, 대조군은 시간 상 이전 기간, 예컨대 면역억제제를 포함하는 투여 전 및 NF- κ B-매개 염증의 발병 후의 동일한 대상체로부터의 샘플이다. 일부 실시양태에서, 대조군 샘플은 NF- κ B-매개 염증은 동일하지만 면역억제제를 포함하는 나노담체의 투여가 없는 대상체로부터의 것이다. "염증 마커"는 통상적으로 대상체에서 염증을 나타내는 것이다. 염증 마커는 FGF-21, 종양 괴사 인자- α (TNF- α), 인터류킨-1 β (IL-1 β), 프로스타글란딘 E2 (PGE2), 매트릭스 메탈로프로테이나제 9 (MMP-9), TIMP 메탈로프로테이나제 억제제 1 (TIMP-1), 인터류킨 17 (IL-17), C-반응성 단백질, 및 적혈구 침강 속도 (ESR) 등을 포함할 수 있다. 특정 기관 부위에서의 감소된 염증은 X선, MRI, 또는 CT 스캔에 의해 확인될 수 있다. 염증 마커는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 방법에 의해, 예컨대 대상체로부터의 세포, 조직 또는 체액에서, 예컨대 대상체의 혈청 또는 혈장에서 결정될 수 있다.

[0112] "반복 용량" 또는 "반복 투여" 등은 동일한 물질의 이전 용량 또는 투여에 후속하여 대상체에게 투여되는 적어도 1회의 추가의 용량 또는 투여를 의미한다. 예를 들어, 면역억제제를 포함하는 나노담체의 반복 용량은 동일

한 물질의 이전 용량 후에 수행된다. 물질은 동일할 수 있지만, 반복 용량에서의 물질의 양은 초기 용량과 상이할 수 있다. 반복 용량은 본원에 제공된 바와 같이 투여될 수 있다. 반복 투여는 그것이 대상체에 유의한 효과를 발생시키는 경우에 효과적인 것으로 간주된다. 바람직하게는, 효과적인 반복 투여는 본원에 제공된 반응/결과/효과 중 어느 하나 이상, 예컨대 증가된 자가포식, 감소된 면역 반응, 증가된 면역 반응, 면역관용성 표현형의 촉진 및/또는 감소된 NF- κ B-매개 염증을 발생시킨다. 본원에 제공된 방법 중 어느 하나는 반복 투여 단계를 포함할 수 있다.

[0113] "대상체"는 온혈 포유동물 예컨대 인간 및 영장류; 조류; 가정용 또는 농장용 가축 예컨대 고양이, 개, 양, 염소, 소, 말 및 돼지; 실험 동물 예컨대 마우스, 래트 및 기니 피그; 어류; 파충류; 동물원 및 야생 동물 등을 포함한 동물을 의미한다. 본원에 제공된 방법, 조성물 및 키트 중 어느 하나에서, 대상체는 인간이다.

[0114] "합성 나노담체(들)"는 자연에서 발견되지 않고, 크기가 5 마이크로미터 이하인 적어도 하나의 치수를 보유하는 개별 대상을 의미한다. 합성 나노담체는 구형, 입방형, 피라미드형, 직사각형, 원통형, 토로이드형 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는 다양한 상이한 형상일 수 있다. 합성 나노담체는 1개 이상의 표면을 포함한다.

[0115] 합성 나노담체는 지질-기반 나노입자 (본원에서 지질 나노입자, 즉 그들의 구조를 구성하는 대다수의 물질이 지질인 나노입자로서 지칭되기도 함), 중합체 나노입자, 금속성 나노입자, 계면활성제-기반 에멀전, 텐드리머, 버키볼, 나노와이어, 바이러스-유사 입자 (즉, 주로 바이러스 구조 단백질로 구성되지만, 감염성이 아니거나 또는 낮은 감염성을 갖는 입자), 펩티드 또는 단백질-기반 입자 (본원에서 단백질 입자, 즉 그들의 구조를 구성하는 대다수의 물질이 펩티드 또는 단백질인 입자로서 지칭되기도 함) (예컨대, 알부민 나노입자) 및/또는 나노물질의 조합을 사용하여 개발된 나노입자, 예컨대 지질-중합체 나노입자 중 1개 또는 복수개일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다. 합성 나노담체는 구형, 입방형, 피라미드형, 직사각형, 원통형, 토로이드형 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는 다양한 상이한 형상일 수 있다. 합성 나노담체의 예는 (1) 미국 특허 5,543,158 (Gref et al.)에 개시된 생분해성 나노입자, (2) 공개된 미국 특허 출원 20060002852 (Saltzman et al.)의 중합체 나노입자, (3) 공개된 미국 특허 출원 20090028910 (DeSimone et al.)의 리소그래픽적으로 구축된 나노입자, (4) WO 2009/051837 (von Andrian et al.)의 개시내용, (5) 공개된 미국 특허 출원 2008/0145441 (Penades et al.)에 개시된 나노입자, (6) 문헌 [P. Paolicelli et al., "Surface-modified PLGA-based Nanoparticles that can Efficiently Associate and Deliver Virus-like Particles" *Nanomedicine*. 5(6):843-853 (2010)]에 개시된 나노침전된 나노입자, 및 (7) 문헌 [Look et al., Nanogel-based delivery of mycophenolic acid ameliorates systemic lupus erythematosus in mice" *J. Clinical Investigation* 123(4):1741-1749(2013)]의 것을 포함한다.

[0116] 합성 나노담체는 약 100 nm 이하, 바람직하게 100 nm 이하의 최소 치수를 가질 수 있고, 일부 실시양태에서 보체를 활성화하는 히드록실 기를 갖는 표면을 포함하지 않거나 또는 대안적으로 보체를 활성화하는 히드록실 기가 아닌 모이어티로 본질적으로 이루어진 표면을 포함한다. 한 실시양태에서, 약 100 nm 이하, 바람직하게 100 nm 이하의 최소 치수를 갖는 합성 나노담체는 보체를 실질적으로 활성화하는 표면을 포함하지 않거나 또는 대안적으로 보체를 실질적으로 활성화하지 않는 모이어티로 본질적으로 이루어진 표면을 포함한다. 보다 바람직한 실시양태에서, 약 100 nm 이하, 바람직하게 100 nm 이하의 최소 치수를 갖는 본 발명에 따른 합성 나노담체는 보체를 활성화하는 표면을 포함하지 않거나 또는 대안적으로 보체를 활성화하지 않는 모이어티로 본질적으로 이루어진 표면을 포함한다. 실시양태에서, 합성 나노담체는 바이러스-유사 입자를 배제한다. 실시양태에서, 합성 나노담체는 1:1, 1:1.2, 1:1.5, 1:2, 1:3, 1:5, 1:7, 또는 1:10 이상의 중형비를 보유할 수 있다.

[0117] "치료 거대분자"는 대상체에게 투여될 수 있고 치료 효과를 갖는 임의의 단백질, 탄수화물, 지질 또는 핵산을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 치료 거대분자는 치료 폴리뉴클레오티드 또는 치료 단백질일 수 있다.

[0118] "치료 폴리뉴클레오티드"는 대상체에게 투여될 수 있고 치료 효과를 갖는 임의의 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드-기반 요법을 의미한다. 이러한 요법은 유전자 침묵을 포함한다. 이러한 요법의 예는 관련 기술분야에 공지되어 있고, 네이키드 RNA (메신저 RNA, 변형된 메신저 RNA, 및 RNAi의 형태 포함)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0119] "치료 단백질"은 대상체에게 투여될 수 있고 치료 효과를 갖는 임의의 단백질 또는 단백질-기반 요법을 의미한다. 이러한 요법은 단백질 대체 및 단백질 보충 요법을 포함한다. 이러한 요법은 또한 외인성 또는 외래 단백질의 투여, 항체 요법 등을 포함한다. 치료 단백질은 효소, 효소 보조인자, 호르몬, 혈액 응고 인자, 시토킨, 성장 인자, 모노클로날 항체, 항체-약물 접합체, 및 폴리클로날 항체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

- [0120] "치료하는 것"은 대상체가 투여로 인해 생성되는 이익을 가질 수 있을 것으로 예상되는 1종 이상의 치료제의 투여를 지칭한다. 치료하는 것은, 예컨대 또 다른 임상의를 비롯한 또 다른 대상체 또는 대상체 자체가 대상체를 치료하도록 유도 또는 지시하는 것에 의하는 직접적 또는 간접적일 수 있다.
- [0121] "바이러스 벡터"는 트랜스진 또는 핵산 물질, 예컨대 치료제, 예컨대 치료 단백질을 코딩하는 것을 포함하고 이를 전달하도록 적합화된 바이러스 성분, 예컨대 캡시드 및/또는 코트 단백질을 갖는 벡터 구축물을 의미하며, 트랜스진 또는 핵산 물질은 본원에 제공된 바와 같이 발현될 수 있다.
- [0122] C. 방법 및 관련 조성물
- [0123] 예를 들어, 자가포식을 유도 또는 증가시키고/거나 면역관용성 표현형을 촉진하고/거나 NF- κ B-매개 염증을 감소시키고/거나 관련 질환, 장애 및 상태를 치료 및/또는 예방하는데 유용한 방법 및 관련 조성물이 본원에 제공된다. 방법 및 조성물은 유리하게는 또 다른 치료, 예컨대 질환-특이적 치료를 반드시 필요로 하지 않는 치료제를 제공하지만, 또 다른 치료, 예컨대 질환-특이적 치료가 또한 대상체에게 제공될 수도 있다. 본원에 제공된 방법 중 어느 하나에서 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체의 투여는 본원에 제공된 질환, 장애 또는 상태 중 어느 하나의 발병 전 또는 악화 또는 진행 전일 수 있다. 따라서, 투여는 질환, 장애 또는 상태에 대한 1종 이상의 다른 치료제를 사용한 치료 전에 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체를 사용한 사전-치료일 수 있다.
- [0124] 합성 나노담체
- [0125] 매우 다양한 합성 나노담체가 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 합성 나노담체는 구체 또는 구형이다. 일부 실시양태에서, 합성 나노담체는 편평하거나 또는 플레이트 모양이다. 일부 실시양태에서, 합성 나노담체는 정육면체 또는 입방체이다. 일부 실시양태에서, 합성 나노담체는 계란형 또는 타원이다. 일부 실시양태에서, 합성 나노담체는 원통형, 원뿔형 또는 피라미드형이다.
- [0126] 일부 실시양태에서, 각각의 합성 나노담체가 유사한 특성을 갖도록 크기 또는 형상 면에서 비교적 균일한 합성 나노담체의 집단을 사용하는 것이 바람직하다. 예를 들어, 합성 나노담체의 총수에 기초하여, 본원에 제공된 조성물 또는 방법 중 어느 하나의 합성 나노담체의 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%는, 이러한 합성 나노담체의 평균 직경 또는 평균 치수의 5%, 10%, 또는 20% 이내에 속하는 최소 치수 또는 최대 치수를 가질 수 있다.
- [0127] 합성 나노담체는 고체 또는 중공일 수 있고, 1개 이상의 층을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 각 층은 다른 층(들)과 비교해서 고유한 조성 및 고유한 특성을 갖는다. 하나의 예로, 합성 나노담체는 코어/셸 구조를 가질 수 있고, 여기서 코어는 1개의 층이고 (예를 들어, 중합체 코어), 셸은 제2의 층 (예를 들어, 지질 이중층 또는 단층)이다. 합성 나노담체는 복수의 상이한 층을 포함할 수 있다.
- [0128] 일부 실시양태에서, 합성 나노담체는 하나 이상의 지질을 임의로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 합성 나노담체는 리포솜을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 합성 나노담체는 지질 이중층을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 합성 나노담체는 지질 단층을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 합성 나노담체는 미셀을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 합성 나노담체는 지질 층 (예를 들어, 지질 이중층, 지질 단층 등)에 의해 둘러싸인 중합체 매트릭스를 포함하는 코어를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 합성 나노담체는 지질 층 (예를 들어, 지질 이중층, 지질 단층 등)에 의해 둘러싸인 비-중합체 코어 (예를 들어, 금속 입자, 양자점, 세라믹 입자, 골 입자, 바이러스 입자, 단백질, 핵산, 탄수화물 등)를 포함할 수 있다.
- [0129] 다른 실시양태에서, 합성 나노담체는 금속 입자, 양자점, 세라믹 입자 등을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 비-중합체 합성 나노담체는 비-중합체 성분의 응집체, 예컨대 금속 원자 (예를 들어, 금 원자)의 응집체이다.
- [0130] 일부 실시양태에서, 합성 나노담체는 하나 이상의 친양쪽성 실체를 임의로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 친양쪽성 실체는 증가된 안정성, 개선된 균일성, 또는 증가된 점도를 갖는 합성 나노담체의 생성을 촉진할 수 있다. 일부 실시양태에서, 친양쪽성 실체는 지질 막 (예를 들어, 지질 이중층, 지질 단층 등)의 내부 표면과 회합될 수 있다. 관련 기술분야에 공지된 많은 친양쪽성 실체가 본 발명에 따라 합성 나노담체를 제조하는데 사용하기에 적합하다. 이러한 친양쪽성 실체는 포스포글리세리드; 포스파티딜콜린; 디팔미토일 포스파티딜콜린 (DPPC); 디올레일포스파티딜 에탄올아민 (DOPE); 디올레일옥시프로필트리에틸암모늄 (DOTMA); 디올레오일포스파티딜콜린; 콜레스테롤; 콜레스테롤 에스테르; 디아실글리세롤; 디아실글리세롤숙시네이트; 디포스파티딜 글리세롤 (DPPG); 핵산데칸올; 지방 알콜, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜 (PEG); 폴리옥시에틸렌-9-라우릴

에테르; 표면 활성 지방산, 예컨대 팔미트산 또는 올레산; 지방산; 지방산 모노글리세리드; 지방산 디글리세리드; 지방산 아미드; 소르비탄 트리올레이트 (스판(Span)®85) 글리코콜레이트; 소르비탄 모노라우레이트 (스판®20); 폴리소르베이트 20 (트윈(Tween)®20); 폴리소르베이트 60 (트윈®60); 폴리소르베이트 65 (트윈®65); 폴리소르베이트 80 (트윈®80); 폴리소르베이트 85 (트윈®85); 폴리옥시에틸렌 모노스테아레이트; 서팩틴; 폴록사머; 소르비탄 지방산 에스테르, 예컨대 소르비탄 트리올레이트; 레시틴; 리소레시틴; 포스파티딜세린; 포스파티딜이노시톨; 스프링고미엘린; 포스파티딜에탄올아민 (세팔린); 카르디올리핀; 포스파티드산; 세레브로시드; 디세틸포스페이트; 디팔미토일포스파티딜글리세롤; 스테아릴아민; 도데실아민; 헥사데실-아민; 아세틸 팔미테이트; 글리세롤 리시놀레이트; 헥사데실 스테아레이트; 이소프로필 미리스테이트; 킬록사폴; 폴리(에틸렌 글리콜)5000-포스파티딜에탄올아민; 폴리(에틸렌 글리콜)400-모노스테아레이트; 인지질; 높은 계면활성제 특성을 갖는 합성 및/또는 천연 세제; 데옥시콜레이트; 시클로텍스트린; 카오트로픽 염; 이온 쌍형성 작용제; 및 그의 조합을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 친양쪽성 실체 성분은 상이한 친양쪽성 실체의 혼합물일 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 이것이 계면활성제 활성을 갖는 물질의 포괄적인 목록이 아니라 예시적인 목록이라는 것을 인식할 것이다. 임의의 친양쪽성 실체가 본 발명에 따라 사용될 합성 나노담체의 생성에 사용될 수 있다.

[0131] 일부 실시양태에서, 합성 나노담체는 하나 이상의 탄수화물을 임의로 포함할 수 있다. 탄수화물은 천연 또는 합성일 수 있다. 탄수화물은 유도된 천연 탄수화물일 수 있다. 특정 실시양태에서, 탄수화물은 모노사카라이드 또는 디사카라이드를 포함하며, 이는 글루코스, 프룩토스, 갈락토스, 리보스, 락토스, 수크로스, 말토스, 트레할로스, 셀로비오스, 만노스, 크실로스, 아라비노스, 글루쿠론산, 갈락토론산, 만누론산, 글루코사민, 갈락토사민, 및 뉴탐산을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 특정 실시양태에서, 탄수화물은 폴리사카라이드이며, 이는 풀루란, 셀룰로스, 미세결정질 셀룰로스, 히드록시프로필 메틸셀룰로스 (HPMC), 히드록시셀룰로스 (HC), 메틸셀룰로스 (MC), 텍스트란, 시클로텍스트란, 글리코젠, 히드록시에틸전분, 카라기난, 글리콘, 아밀로스, 키토산, N,O-카르복실메틸키토산, 알긴 및 알긴산, 전분, 키틴, 이눌린, 곤약, 글루코만난, 푸스톨란, 헤파린, 히알루론산, 커들란 및 크산탄을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 실시양태에서, 합성 나노담체는 탄수화물, 예컨대 폴리사카라이드를 포함하지 않는다 (또는 구체적으로 배제한다). 특정 실시양태에서, 탄수화물은 탄수화물 유도체, 예컨대 만니톨, 소르비톨, 크실리톨, 에리트리톨, 말티톨 및 락티톨을 포함하나 이에 제한되지는 않는 당 알콜을 포함할 수 있다.

[0132] 일부 실시양태에서, 합성 나노담체는 하나 이상의 중합체를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 합성 나노담체는 비-메톡시-중결, 플루로닉 중합체인 하나 이상의 중합체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 합성 나노담체를 구성하는 중합체의 적어도 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 또는 99% (중량/중량)가 비-메톡시-중결, 플루로닉 중합체이다. 일부 실시양태에서, 합성 나노담체를 구성하는 모든 중합체가 비-메톡시-중결, 플루로닉 중합체이다. 일부 실시양태에서, 합성 나노담체는 비-메톡시-중결 중합체인 하나 이상의 중합체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 합성 나노담체를 구성하는 중합체의 적어도 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 또는 99% (중량/중량)가 비-메톡시-중결 중합체이다. 일부 실시양태에서, 합성 나노담체를 구성하는 모든 중합체가 비-메톡시-중결 중합체이다. 일부 실시양태에서, 합성 나노담체는 플루로닉 중합체를 포함하지 않는 하나 이상의 중합체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 합성 나노담체를 구성하는 중합체의 적어도 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 또는 99% (중량/중량)가 플루로닉 중합체를 포함하지 않는다. 일부 실시양태에서, 합성 나노담체를 구성하는 모든 중합체가 플루로닉 중합체를 포함하지 않는다. 일부 실시양태에서, 이러한 중합체는 코팅 층 (예를 들어, 리포솜, 지질 단층, 미셀 등)에 의해 둘러싸일 수 있다. 일부 실시양태에서, 합성 나노담체의 요소가 상기 중합체에 부착될 수 있다.

[0133] 면역억제제는 수많은 방법 중 임의의 것에 의해 합성 나노담체와 커플링될 수 있다. 일반적으로, 부착은 면역억제제와 합성 나노담체 사이의 결합에 따른 결과일 수 있다. 이러한 결합으로 인해, 면역억제제가 합성 나노담체의 표면에 부착되게 하고/거나 합성 나노담체 내에 함유 (캡슐화)될 수 있다. 그러나, 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 일부 실시양태에서, 면역억제제는 합성 나노담체에 대한 결합보다는 오히려 합성 나노담체의 구조에 따른 결과로서 합성 나노담체에 의해 캡슐화된다. 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 바람직한 실시양태에서, 합성 나노담체는 본원에 제공된 바와 같은 중합체를 포함하고, 면역억제제는 중합체에 커플링된다.

[0134] 면역억제제와 합성 나노담체 사이의 결합에 따른 결과로서 커플링이 일어나는 경우, 이러한 커플링은 커플링 모

이어티를 통해 일어날 수 있다. 커플링 모이어티는, 이를 통해 면역억제제가 합성 나노담체와 결합되는 임의의 모이어티일 수 있다. 이러한 모이어티는 공유 결합, 예컨대 아미드 결합 또는 에스테르 결합을 포함할 뿐만 아니라 면역억제제를 합성 나노담체와 (공유 또는 비공유) 결합시켜 주는 별개의 분자를 포함한다. 이러한 분자는 링커 또는 중합체 또는 그의 유닛을 포함한다. 예를 들어, 커플링 모이어티는 면역억제제와 정전기적으로 결합하는, 하전된 중합체를 포함할 수 있다. 또 다른 예로서, 커플링 모이어티는 그와 공유 결합되는 중합체 또는 그의 유닛을 포함할 수 있다.

[0135] 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 바람직한 실시양태에서, 합성 나노담체는 본원에 제공된 바와 같은 중합체를 포함한다. 이들 합성 나노담체는 완전하게 중합체성일 수 있거나 또는 중합체와 다른 물질의 혼합물일 수 있다.

[0136] 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 일부 실시양태에서, 합성 나노담체의 중합체들이 회합하여 중합체 매트릭스를 형성한다. 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 이들 실시양태 중 일부에서, 성분, 예컨대 면역억제제는 이러한 중합체 매트릭스의 하나 이상의 중합체와 공유 회합될 수 있다. 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 일부 실시양태에서, 공유 회합은 링커에 의해 매개된다. 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 일부 실시양태에서, 성분은 중합체 매트릭스의 1종 이상의 중합체와 비-공유적으로 회합될 수 있다. 예를 들어, 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 일부 실시양태에서, 성분은 중합체 매트릭스 내에 캡슐화될 수 있고/거나, 이러한 매트릭스에 의해 둘러싸일 수 있고/거나 상기 매트릭스 전반에 걸쳐 분산될 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 성분은 소수성 상호작용, 전하 상호작용, 반 데르 발스 힘 등에 의해 중합체 매트릭스의 하나 이상의 중합체와 회합될 수 있다. 광범위한 중합체 및 그로부터 중합체 매트릭스를 형성하는 방법은 통상적으로 공지되어 있다.

[0137] 중합체는 천연 또는 비천연 (합성) 중합체일 수 있다. 중합체는 단독중합체이거나 또는 2개 이상의 단량체를 포함하는 공중합체일 수 있다. 순서의 면에서, 공중합체는 무작위 또는 블록일 수 있거나 또는 무작위 및 블록 순서의 조합을 포함할 수 있다. 전형적으로, 본 발명에 따른 중합체는 유기 중합체이다.

[0138] 일부 실시양태에서, 중합체는 폴리에스테르, 폴리카르보네이트, 폴리아미드, 또는 폴리에테르, 또는 그의 유닛을 포함한다. 다른 실시양태에서, 중합체는 폴리(에틸렌 글리콜) (PEG), 폴리프로필렌 글리콜, 폴리(락트산), 폴리(글리콜산), 폴리(락트산-코-글리콜산), 또는 폴리카프로락톤, 또는 그의 유닛을 포함한다. 일부 실시양태에서, 중합체가 생분해성인 것이 바람직하다. 따라서, 이들 실시양태에서, 중합체가 폴리에테르, 예컨대 폴리(에틸렌 글리콜) 또는 폴리프로필렌 글리콜 또는 그의 유닛을 포함하는 경우, 중합체는 폴리에테르와 생분해성 중합체의 블록 공중합체를 포함하여, 중합체가 생분해성이 되도록 하는 것이 바람직하다. 다른 실시양태에서, 중합체는 폴리에테르 또는 그의 유닛, 예컨대 폴리(에틸렌 글리콜) 또는 폴리프로필렌 글리콜 또는 그의 유닛을 단독으로 포함하지 않는다.

[0139] 본 발명에 사용하기 적합한 중합체의 다른 예는 폴리에틸렌, 폴리카르보네이트 (예를 들어, 폴리(1,3-디옥산-2온)), 폴리무수물 (예를 들어, 폴리(세바스산 무수물)), 폴리프로필푸마레이트, 폴리아미드 (예를 들어, 폴리 카프로락탐), 폴리아세탈, 폴리에테르, 폴리에스테르 (예를 들어, 폴리락티드, 폴리글리콜리드, 폴리락티드-코-글리콜리드, 폴리카프로락톤, 폴리히드록시산 (예를 들어, 폴리(β -히드록시알카노에이트))), 폴리(오르토에스테르), 폴리스시아노아크릴레이트, 폴리비닐 알콜, 폴리우레탄, 폴리포스파젠, 폴리아크릴레이트, 폴리메타크릴레이트, 폴리우레아, 폴리스티렌, 및 폴리아민, 폴리아민, 폴리아민-PEG 공중합체, 및 폴리(에틸렌이민)-PEG 공중합체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0140] 일부 실시양태에서, 본 발명에 따른 중합체는 21 C.F.R. § 177.2600 하에 미국 식품 의약품국 (FDA)에 의해 인간에게 사용하도록 승인된 중합체를 포함하며, 이는 폴리에스테르 (예를 들어, 폴리락트산, 폴리(락트산-코-글리콜산), 폴리카프로락톤, 폴리말레올락톤, 폴리(1,3-디옥산-2온)); 폴리무수물 (예를 들어, 폴리(세바스산 무수물)); 폴리에테르 (예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜); 폴리우레탄; 폴리메타크릴레이트; 폴리아크릴레이트; 및 폴리스시아노아크릴레이트를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0141] 일부 실시양태에서, 중합체는 친수성일 수 있다. 예를 들어, 중합체는 음이온성 기 (예를 들어, 포스페이트 기, 술페이트 기, 카르복실레이트 기); 양이온성 기 (예를 들어, 4급 아민 기); 또는 극성 기 (예를 들어, 히드록실 기, 티올 기, 아민 기)를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 친수성 중합체 매트릭스를 포함하는 합성 나노담체는 이러한 합성 나노담체 내에 친수성 환경을 생성한다. 일부 실시양태에서, 중합체는 소수성일 수 있다. 일부 실시양태에서, 소수성 중합체 매트릭스를 포함하는 합성 나노담체는 이러한 합성 나노담체 내에 소수성 환경을 생성한다. 중합체의 친수성 또는 소수성의 선택은 합성 나노담체 내에 혼입되는 물질의 성질에 강력

한 영향을 미칠 수 있다.

- [0142] 일부 실시양태에서, 중합체는 하나 이상의 모이어티 및/또는 관능기에 의해 변형될 수 있다. 다양한 모이어티 또는 관능기가 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 중합체는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG); 탄수화물; 및/또는 폴리사카라이드로부터 유래된 비-시클릭 폴리아세탈에 의해 변형될 수 있다 (Papisov, 2001, ACS Symposium Series, 786:301). 특정 실시양태는 미국 특허 번호 5543158 (Gref et al.), 또는 WO 공개 번호 W02009/051837 (Von Andrian et al.)의 일반적 교시를 이용하여 이루어질 수 있다.
- [0143] 일부 실시양태에서, 중합체는 지질 또는 지방산 기에 의해 변형될 수 있다. 일부 실시양태에서, 지방산 기는 부티르산, 카프로산, 카프릴산, 카프르산, 라우르산, 미리스트산, 팔미트산, 스테아르산, 아라키드산, 베헨산, 또는 리그노세르산 중 하나 이상일 수 있다. 일부 실시양태에서, 지방산 기는 팔미톨레산, 올레산, 바센산, 리놀레산, 알파-리놀레산, 감마-리놀레산, 아라키돈산, 가돌레산, 아라키돈산, 에이코사헵타엔산, 도코사헵타엔산, 또는 에루산 중 하나 이상일 수 있다.
- [0144] 일부 실시양태에서, 중합체는 폴리에스테르일 수 있고, 이는 락트산과 글리콜산 유닛을 포함하는 공중합체, 예컨대 폴리(락트산-코-글리콜산) 및 폴리(락티드-코-글리콜리드) (본원에서 집합적으로 "PLGA"로서 지칭됨); 및 글리콜산 유닛을 포함하는 단독중합체 (본원에서 "PGA"로서 지칭됨); 및 락트산 유닛을 포함하는 단독중합체, 예컨대 폴리-L-락트산, 폴리-D-락트산, 폴리-D,L-락트산, 폴리-L-락티드, 폴리-D-락티드, 및 폴리-D,L-락티드 (본원에서 집합적으로 "PLA"로서 지칭됨)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 예시적인 폴리에스테르는, 예를 들어 폴리히드록시산; PEG 공중합체 및 락티드 및 글리콜리드의 공중합체 (예를 들어, PLA-PEG 공중합체, PGA-PEG 공중합체, PLGA-PEG 공중합체, 및 그의 유도체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리에스테르는, 예를 들어 폴리(카프로락톤), 폴리(카프로락톤)-PEG 공중합체, 폴리(L-락티드-코-L-리신), 폴리(세린 에스테르), 폴리(4-히드록시-L-프롤린 에스테르), 폴리[α -(4-아미노부틸)-L-글리콜산], 및 그의 유도체를 포함한다.
- [0145] 일부 실시양태에서, 중합체는 PLGA일 수 있다. PLGA는 락트산과 글리콜산의 생체적합성 및 생분해성 공중합체이고, 다양한 형태의 PLGA는 락트산:글리콜산의 비를 특징으로 한다. 락트산은 L-락트산, D-락트산, 또는 D,L-락트산일 수 있다. PLGA의 분해 속도는 락트산:글리콜산 비를 변경시킴으로써 조정될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명에 따라 사용될 PLGA는 대략 85:15, 대략 75:25, 대략 60:40, 대략 50:50, 대략 40:60, 대략 25:75, 또는 대략 15:85의 락트산:글리콜산 비를 특징으로 한다.
- [0146] 일부 실시양태에서, 중합체는 하나 이상의 아크릴 중합체일 수 있다. 특정 실시양태에서, 아크릴 중합체는, 예를 들어 아크릴산과 메타크릴산 공중합체, 메틸 메타크릴레이트 공중합체, 에톡시에틸 메타크릴레이트, 시아노에틸 메타크릴레이트, 아미노알킬 메타크릴레이트 공중합체, 폴리(아크릴산), 폴리(메타크릴산), 메타크릴산 알킬아미드 공중합체, 폴리(메틸 메타크릴레이트), 폴리(메타크릴산 무수물), 메틸 메타크릴레이트, 폴리메타크릴레이트, 폴리(메틸 메타크릴레이트) 공중합체, 폴리(아크릴아미드), 아미노알킬 메타크릴레이트 공중합체, 글리시딜 메타크릴레이트 공중합체, 폴리스시아노아크릴레이트, 및 상기 중합체 중 하나 이상을 포함하는 조합물을 포함한다. 아크릴 중합체는 4급 암모늄 기의 함량이 낮은 아크릴산과 메타크릴산 에스테르의 완전 중합된 공중합체를 포함할 수 있다.
- [0147] 일부 실시양태에서, 중합체는 양이온성 중합체일 수 있다. 일반적으로, 양이온성 중합체는 핵산의 염으로 하전된 가닥을 응축 및/또는 보호할 수 있다. 아민-함유 중합체, 예컨대 폴리(리신) (문헌 [Zauner et al., 1998, Adv. Drug Del. Rev., 30:97; 및 Kabanov et al., 1995, Bioconjugate Chem., 6:7]), 폴리(에틸렌 이민) (PEI; 문헌 [Boussif et al., 1995, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 1995, 92:7297]), 및 폴리(아미도아민) 덴드리머 (문헌 [Kukowska-Latallo et al., 1996, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 1996, 93:4897; Tang et al., 1996, Bioconjugate Chem., 7:703; 및 Haensler et al., 1993, Bioconjugate Chem., 4:372])가 생리학상 pH에서 양으로-하전되어, 핵산과 이온 쌍을 형성한다. 실시양태에서, 합성 나노담체는 양이온성 중합체를 포함하지 않을 수 있다 (또는 이를 배제할 수 있다).
- [0148] 일부 실시양태에서, 중합체는 양이온성 측쇄를 보유하는 분해성 폴리에스테르일 수 있다 (Putnam et al., 1999, Macromolecules, 32:3658; Barrera et al., 1993, J. Am. Chem. Soc., 115:11010; Kwon et al., 1989, Macromolecules, 22:3250; Lim et al., 1999, J. Am. Chem. Soc., 121:5633; 및 Zhou et al., 1990, Macromolecules, 23:3399). 이들 폴리에스테르의 예는 폴리(L-락티드-코-L-리신) (문헌 [Barrera et al., 1993, J. Am. Chem. Soc., 115:11010]), 폴리(세린 에스테르) (문헌 [Zhou et al., 1990, Macromolecules, 23:3399]), 폴리(4-히드록시-L-프롤린 에스테르) (문헌 [Putnam et al., 1999, Macromolecules, 32:3658; 및 Lim et al., 1999, J. Am. Chem. Soc., 121:5633]), 및 폴리(4-히드록시-L-프롤린 에스테르) (문헌 [Putnam et

al., 1999, *Macromolecules*, 32:3658; 및 Lim et al., 1999, *J. Am. Chem. Soc.*, 121:5633])를 포함한다.

- [0149] 이들 및 다른 중합체의 특성, 및 이들의 제조 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 6,123,727; 5,804,178; 5,770,417; 5,736,372; 5,716,404; 6,095,148; 5,837,752; 5,902,599; 5,696,175; 5,514,378; 5,512,600; 5,399,665; 5,019,379; 5,010,167; 4,806,621; 4,638,045; 및 4,946,929; 문헌 [Wang et al., 2001, *J. Am. Chem. Soc.*, 123:9480; Lim et al., 2001, *J. Am. Chem. Soc.*, 123:2460; Langer, 2000, *Acc. Chem. Res.*, 33:94; Langer, 1999, *J. Control. Release*, 62:7; 및 Uhrich et al., 1999, *Chem. Rev.*, 99:3181] 참조). 보다 일반적으로, 특정의 적합한 중합체를 합성하는 다양한 방법이 문헌 ([*Concise Encyclopedia of Polymer Science and Polymeric Amines and Ammonium Salts*, Ed. by Goethals, Pergamon Press, 1980; *Principles of Polymerization* by Odian, John Wiley & Sons, Fourth Edition, 2004; *Contemporary Polymer Chemistry* by Allcock et al., Prentice-Hall, 1981; Deming et al., 1997, *Nature*, 390:386]; 및 미국 특허 번호 6,506,577, 6,632,922, 6,686,446, 및 6,818,732)에 기재되어 있다.
- [0150] 일부 실시양태에서, 중합체는 선형 또는 분지형 중합체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 중합체는 덴드리머일 수 있다. 일부 실시양태에서, 중합체는 서로 실질적으로 가교될 수 있다. 일부 실시양태에서, 중합체는 실질적으로 가교가 없을 수 있다. 일부 실시양태에서, 중합체는 가교 단계를 거치지 않으면서 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 합성 나노담체는 상기 및 다른 중합체 중 임의의 것의 블록 공중합체, 그래프트 공중합체, 블렌드, 혼합물 및/또는 부가물을 포함할 수 있는 것으로 추가로 이해되어야 한다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 본원에 열거된 중합체가 본 발명에 따라 사용될 수 있는 중합체의 포괄적인 목록이 아니라 예시적인 목록을 나타낸다는 것을 인식할 것이다.
- [0151] 일부 실시양태에서, 합성 나노담체는 중합체 성분을 포함하지 않는다. 일부 실시양태에서, 합성 나노담체는 금속 입자, 양자점, 세라믹 입자 등을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 비-중합체 합성 나노담체는 비-중합체 성분의 응집체, 예컨대 금속 원자 (예를 들어, 금 원자)의 응집체이다.
- [0152] 면역억제제
- [0153] 본원에 제공된 바와 같은 임의의 면역억제제는, 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 일부 실시양태에서, 합성 나노담체에 커플링될 수 있다. 면역억제제는 스타틴; mTOR 억제제, 예컨대 라파마이신 또는 라파마이신 유사체 (라파로그); TGF- β 신호전달 작용제; TGF- β 수용체 효능제; 히스톤 데아세틸라제 (HDAC) 억제제; 코르티코스테로이드; 미토콘드리아 기능의 억제제, 예컨대 로테논; P38 억제제; NF- κ B 억제제; 아데노신 수용체 효능제; 프로스타글란딘 E2 효능제; 포스포디에스테라제 억제제, 예컨대 포스포디에스테라제4 억제제; 프로테아솜 억제제; 키나제 억제제; G-단백질 커플링된 수용체 효능제; G-단백질 커플링된 수용체 길항제; 글루코코르티코이드; 레티노이드; 시토카인 억제제; 시토카인 수용체 억제제; 시토카인 수용체 활성화제; 퍼옥시솜 증식자-활성화된 수용체 길항제; 퍼옥시솜 증식자-활성화된 수용체 효능제; 히스톤 데아세틸라제 억제제; 칼시뉴린 억제제; 포스파타제 억제제 및 산화된 ATP를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 면역억제제는 또한, IDO, 비타민 D3, 시클로스포린 A, 아릴 탄화수소 수용체 억제제, 레스베라트롤, 아자티오피린, 6-메르캅토피린, 아스피린, 니폴륨산, 에스트리올, 트리폴리드, 인터류킨 (예를 들어, IL-1, IL-10), 시클로스포린 A, siRNA 표적화 시토카인 또는 시토카인 수용체 등을 포함한다.
- [0154] 스타틴의 예는 아토르바스타틴 (리피토르(LIPITOR)®), 토르바스트(TORVAST)®, 세리바스타틴, 플루바스타틴 (레스콜(LESCOL)®, 레스콜® XL), 로바스타틴 (메바코르(MEVACOR)®, 알토코르(ALTOCOR)®, 알토프레브(ALTOPREV)®), 메바스타틴 (콤팩틴(COMPACTIN)®), 피타바스타틴 (리발로(LIVALO)®, 피아바(PIAVA)®), 로수바스타틴 (프라바콜(PRAVACHOL)®, 셀렉틴(SELEKTINE)®, 리포스타트(LIPOSTAT)®), 로수바스타틴 (크레스토르(CRESTOR)®), 및 심바스타틴 (조코르(ZOCOR)®, 리펙스(LIPEX)®)를 포함한다.
- [0155] mTOR 억제제의 예는 라파마이신 및 그의 유사체 (예를 들어, CCL-779, RAD001, AP23573, C20-메트알릴라파마이신 (C20-Marap), C16-(S)-부틸술폰아미도라파마이신 (C16-BSrap), C16-(S)-3-메틸인돌라파마이신 (C16-iRap) (Bayle et al., *Chemistry & Biology* 2006, 13:99-107)), AZD8055, BEZ235 (NVP-BEZ235), 크리소판산 (크리소판올), 데포롤리무스 (MK-8669), 에베롤리무스 (RAD0001), KU-0063794, PI-103, PP242, 템시롤리무스, 및 WYE-354 (미국 텍사스주 휴스턴 소재의 셀렉(Selleck)으로부터 입수 가능함)를 포함한다.
- [0156] 본원에 사용된 "라파로그"는 라파마이신과 구조상 관련된 (유사체) 분자 (시롤리무스)를 지칭한다. 라파로그의 예는, 비제한적으로, 템시롤리무스 (CCI-779), 에베롤리무스 (RAD001), 리다포롤리무스 (AP-23573), 및 조타롤리무스 (ABT-578)를 포함한다. 라파로그의 추가의 예는, 예를 들어 WO 공개 WO 1998/002441 및 미국 특허 번호

8,455,510에서 확인할 수 있고, 그의 라파로그는 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

- [0157] 합성 나노담체에 커플링된 경우에, 전체 합성 나노담체 내의 물질의 총 건조 레시피 중량에 기초한 합성 나노담체에 커플링된 면역억제제의 양 (중량/중량)은 본원의 다른 곳에 기재된 바와 같다. 바람직하게는, 본원에 제공된 방법 또는 조성물 또는 키트 중 어느 하나의 일부 실시양태에서, 면역억제제, 예컨대 라파마이신 또는 라파로그의 로드는 4 중량%, 5 중량%, 6.5, 7 중량%, 8 중량%, 9 중량% 또는 10 중량% 내지 25 중량%, 26 중량%, 27 중량%, 28 중량%, 29 중량%, 30 중량%, 31 중량%, 32 중량%, 33 중량%, 34 중량%, 35 중량%, 36 중량%, 37 중량%, 38 중량%, 39 중량% 또는 40 중량%이다.
- [0158] 면역억제제에 커플링된 합성 나노담체와 관련하여, 성분을 합성 나노담체에 커플링시키는 방법이 유용할 수 있다. 합성 나노담체의 요소들은, 예를 들어 하나 이상의 공유 결합에 의해 전체 합성 나노담체에 커플링될 수 있거나, 또는 하나 이상의 링커를 통해 부착될 수 있다. 합성 나노담체를 관능화하는 추가의 방법은 공개된 미국 특허 출원 2006/0002852 (Saltzman et al.), 공개된 미국 특허 출원 2009/0028910 (DeSimone et al.), 또는 공개된 국제 특허 출원 WO/2008/127532 A1 (Murthy et al.)로부터 적합화될 수 있다.
- [0159] 일부 실시양태에서, 커플링은 공유 링커일 수 있다. 실시양태에서, 본 발명에 따른 면역억제제는 알킨 기를 함유하는 면역억제제와 아지도 기와의 1,3-양극성 고리화첨가 반응에 의해 형성되거나 또는 아지도 기를 함유하는 면역억제제와 알킨과의 1,3-양극성 고리화첨가 반응에 의해 형성된 1,2,3-트리아졸 링커를 통해 외부 표면에 공유 커플링될 수 있다. 이러한 고리화첨가 반응은 바람직하게, Cu(II) 화합물을 촉매적 활성 Cu(I) 화합물로 환원시키는 환원제 및 적합한 Cu(I)-리간드와 함께 Cu(I) 촉매의 존재 하에 수행된다. 이러한 Cu(I)-촉매된 아지도-알킨 고리화첨가 (CuAAC)는 클릭 반응으로서 지칭될 수도 있다.
- [0160] 추가적으로, 공유 커플링은 아미드 링커, 디설피드 링커, 티오에테르 링커, 히드라존 링커, 히드라지드 링커, 이민 또는 옥심 링커, 우레아 또는 티오우레아 링커, 아미딘 링커, 아민 링커, 및 술폰아미드 링커를 포함하는 공유 링커를 포함할 수 있다.
- [0161] 대안적으로 또는 추가적으로, 합성 나노담체는 비-공유 상호작용을 통해 성분들에 직접 또는 간접적으로 커플링될 수 있다. 비-공유 실시양태에서, 비-공유 부착은 전하 상호작용, 친화도 상호작용, 금속 배위, 물리적 흡착, 호스트-게스트 상호작용, 소수성 상호작용, TT 스택킹 상호작용, 수소 결합 상호작용, 반 데르 발스 상호작용, 자기적 상호작용, 정전기적 상호작용, 쌍극자-쌍극자 상호작용, 및/또는 그의 조합을 포함하나 이에 제한되는 않는 비-공유 상호작용에 의해 매개된다. 이러한 커플링은 합성 나노담체의 외부 표면 또는 내부 표면 상에 있도록 배열될 수 있다. 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 실시양태에서, 캡슐화 및/또는 흡수는 커플링의 형태이다.
- [0162] 이용가능한 접합 방법에 관한 상세한 설명에 대해서는, 문헌 [Hermanson G T "Bioconjugate Techniques", 2nd Edition Published by Academic Press, Inc., 2008]을 참조할 수 있다. 공유 부착 외에도, 상기 성분은 미리 형성된 합성 나노담체에 흡착시킴으로써 커플링시킬 수 있거나 또는 합성 나노담체의 형성 동안 캡슐화함으로써 커플링시킬 수 있다.
- [0163] D. 제조 방법 및 방법 및 관련 조성물의 사용 방법
- [0164] 합성 나노담체는 관련 기술분야에 공지된 매우 다양한 방법을 이용하여 제조할 수 있다. 예를 들어, 합성 나노담체는 나노침전, 유체 채널을 이용한 유동 포커싱, 분무 건조, 단일 및 이중 에멀전 용매 증발, 용매 추출, 상 분리, 밀링, 마이크로에멀전 절차, 마이크로제작, 나노제작, 희생 층, 단순 및 복잡 코아세르베이션과 같은 방법, 및 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지된 다른 방법에 의해 형성될 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 단분산 반도체, 전도성, 자기성, 유기 및 다른 나노물질에 대한 수성 및 유기 용매 합성이 기재되어 있다 (Pellegrino et al., 2005, Small, 1:48; Murray et al., 2000, Ann. Rev. Mat. Sci., 30:545; 및 Trindade et al., 2001, Chem. Mat., 13:3843). 추가의 방법이 문헌에 기재되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Doubrow, Ed., "Microcapsules and Nanoparticles in Medicine and Pharmacy," CRC Press, Boca Raton, 1992; Mathiowitz et al., 1987, J. Control. Release, 5:13; Mathiowitz et al., 1987, Reactive Polymers, 6:275; 및 Mathiowitz et al., 1988, J. Appl. Polymer Sci., 35:755]; 미국 특허 5578325 및 6007845; 문헌 [P. Paolicelli et al., "Surface-modified PLGA-based Nanoparticles that can Efficiently Associate and Deliver Virus-like Particles" Nanomedicine. 5(6):843-853 (2010)] 참조).
- [0165] 물질은 문헌 [C. Astete et al., "Synthesis and characterization of PLGA nanoparticles" J. Biomater. Sci. Polymer Edn, Vol. 17, No. 3, pp. 247-289 (2006); K. Avgoustakis "Pegylated Poly(Lactide) and

Poly(Lactide-Co-Glycolide) Nanoparticles: Preparation, Properties and Possible Applications in Drug Delivery" Current Drug Delivery 1:321-333 (2004); C. Reis et al., "Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles" Nanomedicine 2:8- 21 (2006); P. Paolicelli et al., "Surface-modified PLGA-based Nanoparticles that can Efficiently Associate and Deliver Virus-like Particles" Nanomedicine. 5(6):843-853 (2010)]을 포함하나 이에 제한되지는 않는 다양한 방법을 사용하여 원하는 바와 같이 합성 나노담체 내로 캡슐화할 수 있다. 물질을 합성 나노담체 내로 캡슐화하기에 적합한 다른 방법을 사용할 수 있고, 이는 2003년 10월 14일자로 허여된 미국 특허 번호 6,632,671 (Unger)에 개시된 방법을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0166] 특정 실시양태에서, 합성 나노담체는 나노침전 공정 또는 분무 건조에 의해 제조된다. 합성 나노담체를 제조하는데 사용된 조건은 목적하는 크기 또는 특성 (예를 들어, 소수성, 친수성, 외부 형태, "점착성", 형상 등)의 입자를 생성하기 위해 변경시킬 수 있다. 합성 나노담체의 제조 방법 및 사용된 조건 (예를 들어, 용매, 온도, 농도, 공기 유량 등)은 합성 나노담체에 부착될 물질 및/또는 중합체 매트릭스의 구성에 좌우될 수 있다.

[0167] 상기 방법 중 임의의 것에 의해 제조된 합성 나노담체가 목적하는 범위를 벗어난 크기 범위를 갖는 경우, 합성 나노담체는, 예를 들어 체를 이용하여 사이징될 수 있다.

[0168] 본원에 제공된 조성물은 무기 또는 유기 완충제 (예를 들어, 포스페이트, 카르보네이트, 아세테이트 또는 시트레이트의 나트륨 또는 칼륨 염) 및 pH 조정제 (예를 들어, 염산, 수산화나트륨 또는 수산화칼륨, 시트레이트 또는 아세테이트의 염, 아미노산 및 그의 염), 항산화제 (예를 들어, 아스코르브산, 알파-토코페롤), 계면활성제 (예를 들어, 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 80, 폴리옥시에틸렌9-10 노닐 페놀, 소듐 데스옥시콜레이트), 용액 및/또는 냉동/동결 안정화제 (예를 들어, 수크로스, 락토스, 만니톨, 트레할로스), 삼투 조정제 (예를 들어, 염 또는 당), 항박테리아제 (예를 들어, 벤조산, 페놀, 젠타미신), 소포제 (예를 들어, 폴리디메틸실로존), 보존제 (예를 들어, 티메로살, 2-페녹시에탄올, EDTA), 중합체 안정화제 및 점도-조정제 (예를 들어, 폴리비닐 피롤리돈, 폴록사머 488, 카르복시메틸셀룰로스) 및 공-용매 (예를 들어, 글리세롤, 폴리에틸렌 글리콜, 에탄올)를 포함할 수 있다.

[0169] 본 발명에 따른 조성물은 제약상 허용되는 부형제, 예컨대 보존제, 완충제, 염수, 또는 포스페이트 완충 염수를 포함할 수 있다. 조성물은 유용한 투여 형태에 도달하기 위한 통상적인 제약 제작 및 배합 기술을 이용하여 만들 수 있다. 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 조성물은 보존제와 함께 주사하기 위해 멸균 염수 용액 중에 현탁된다. 본 발명을 실시하는데 사용하기 적합한 기술은 문헌 [Handbook of Industrial Mixing: Science and Practice, Edited by Edward L. Paul, Victor A. Atiemo-Ogbeng, and Suzanne M. Kresta, 2004 John Wiley & Sons, Inc.; 및 Pharmaceuticals: The Science of Dosage Form Design, 2nd Ed. Edited by M. E. Auten, 2001, Churchill Livingstone]에서 확인할 수 있다. 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 조성물은 보존제와 주사하기 위해 멸균 염수 용액 중에 현탁된다.

[0170] 본 발명의 조성물은 임의의 적합한 방식으로 제조될 수 있고, 본 발명은 본원에 기재된 방법을 이용하여 생성될 수 있는 조성물로 제한되지 않는다는 것을 이해해야 한다. 적절한 제작 방법을 선택하기 위해 연관된 특정한 모이어티의 특성에 주의를 기울여야 할 수 있다.

[0171] 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 일부 실시양태에서, 조성물은 멸균 조건 하에 제작되거나 또는 최종적으로 멸균된다. 이는 이로써 생성되는 조성물이 멸균이면서 비-감염성이라는 것을 보장하므로, 비-멸균 조성물과 비교해서 안전성을 개선시킬 수 있다. 이것은, 특히 조성물을 투여받는 대상체가 면역 결함이 있고/거나, 감염으로 인해 고통받고 있고/거나 감염되기 쉬운 경우에, 중요한 안전 조치를 제공한다.

[0172] 투여

[0173] 본 발명에 따른 투여는 피하, 정맥내, 및 복강내 경로를 포함하나 이에 제한되지는 않는 다양한 경로에 의할 수 있다. 예를 들어, 제공된 치료 방법 중 어느 하나의 조성물에 대한 투여 방식은 정맥내 투여, 예컨대 예를 들어 약 1시간에 걸쳐 이루어질 수 있는 정맥내 주입에 의한 것일 수 있다. 본원에 언급된 조성물은 통상적인 방법을 사용하여 투여를 위해 제작 및 제조될 수 있다.

[0174] 본 발명의 조성물은 유효량, 예컨대 본원에 기재된 유효량으로 투여될 수 있다. 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 일부 실시양태에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체의 반복된 다중 투여 사이클이 착수된다. 투여 형태의 용량은 본 발명에 따른 면역억제제의 다양한 양을 함유할 수 있다. 투여 형태에 존재하는 면역억제제의 양은 합성 나노담체 및/또는 면역억제제의 성질, 달성될 치료 이익, 및 다른 이러한 파라미터에 따라 달

라질 수 있다. 실시양태에서, 투여 형태에 존재할 성분(들)의 최적의 치료 양을 확립하기 위해 용량 범위 연구를 수행할 수 있다. 실시양태에서, 성분(들)은 본원에 제공된 반응/결과/효과 중 어느 하나 이상을 발생시키기 위해 유효한 양으로 투여 형태에 존재한다. 투여 형태는 다양한 빈도로 투여될 수 있다.

[0175] 본 발명의 측면은 본원에 제공된 바와 같은 투여 방법을 위한 프로토콜을 결정하는 것에 관한 것이다. 프로토콜은 적어도 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체의 빈도, 투여량을 변화시키고, 후속적으로 목적하는 또는 목적하지 않는 반응을 평가함으로써 결정될 수 있다. 프로토콜은 적어도 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체의 투여 빈도 및 용량을 포함할 수 있다. 본원에 제공된 방법 중 어느 하나는 프로토콜을 결정하는 단계를 포함할 수 있거나, 또는 투여 단계는 본원에 제공된 바와 같은 목적하는 결과 중 어느 하나 이상을 달성하기 위해 결정된 프로토콜에 따라 수행된다. 본원에 제공된 방법 중 어느 하나의 한 실시양태에서, 조성물은 예방적으로; 즉 대상체가 질환 또는 장애 또는 상태를 경험하기 전에 대상체에게 제공된다.

[0176] 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체를 포함하는 본원에 제공된 조성물은, 일부 실시양태에서, 치료 거대분자, 바이러스 벡터, 또는 APC 제시가능한 항원과 병용으로 (예를 들어, 동시에) 투여되지 않거나, 또는 치료 거대분자, 바이러스 벡터, 또는 APC 제시가능한 항원 및 개별 (예를 들어, 동일 투여되는 조성물 중에 있지 않음) 투여되는 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체 (예를 들어, 상이한 목적을 위한 것)와 조합되어 병용으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 면역억제제에 커플링된 합성 나노담체를 포함하는 본원에 제공된 조성물은 치료 거대분자, 바이러스 벡터, 또는 APC 제시가능한 항원의 1개월, 1주, 6일, 5일, 4일, 3일, 2일, 1일, 12시간, 6시간, 5시간, 4시간, 3시간, 2시간, 또는 1시간 내에 투여되지 않는다. 상기의 일부 실시양태에서, 또 다른 치료제와 병용으로 투여되는 경우에, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 본원에 제공된 효과를 위한 것이고, 상이한 목적을 위한 것이 아니고/거나 다른 치료제에 대한 효과를 위한 것이 아니다. 상기의 일부 실시양태에서, 또 다른 치료제와 병용으로 투여되는 경우에, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 1) 상이한 목적에 더하여 본원에 제공된 효과를 위한 것이거나 또는 상이한 목적을 위한 것이 아니고/거나 2) 다른 치료제에 대한 효과를 위한 것이 아니거나 또는 다른 치료제에 대한 효과에 더하여 본원에 제공된 효과를 위한 것이다.

[0177] 일부 실시양태에서, 다른 치료제 및 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체가 병용으로 투여되지 않는 경우에, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는, 예컨대 면역억제제를 포함하는 나노담체가 다른 치료제와 병용으로 투여되는 경우에 달성되는 다른 치료제에 대해 효과, 또는 임상적으로 의미있는 또는 실질적인 효과를 갖지 않는다. 일부 실시양태에서, 다른 치료제 및 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체가 둘 다 병용으로 투여되거나 또는 그렇지 않은 경우에, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 본원에 제공된 목적을 위한 단독의, 또는 예컨대 다른 치료제에 대한 또 다른 효과에 더하여 임상적으로 유의한 효과를 갖는다.

[0178] 일부 실시양태에서, 다른 치료제 및 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체가 병용으로 투여되지 않거나 또는 병용으로 투여되지 않지만 본원에 제공된 목적을 위해 투여되는 경우에, 다른 치료제에 대한 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체의 효과는 필요하지 않거나 또는 추가의 효과이다 (병용으로 투여되는 경우). 일부 실시양태에서, 다른 치료제 및 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체가 병용으로 투여되지 않는 경우에, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 면역억제제를 포함하는 나노담체가 다른 치료제와 병용으로 투여되는 경우에 달성되는 다른 치료제에 대한 효과, 또는 임상적으로 의미있는 또는 실질적인 효과 (예를 들어, 다른 치료제의 증가된 효능)를 갖지 않는다.

[0179] 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체를 포함하는 본원에 제공된 조성물은, 일부 실시양태에서, 치료 거대분자, 바이러스 벡터, 또는 APC 제시가능한 항원과 병용으로 (예를 들어, 동시에) 투여되지 않거나, 또는 치료 거대분자, 바이러스 벡터, 또는 APC 제시가능한 항원 및 개별 투여되는 (예를 들어, 동일 투여되는 조성물 중에 있지 않고/거나 예컨대 자가포식 및/또는 본원에 제공된 목적하는 결과/효과/반응 중 임의의 것을 유도하거나 증가시키지 않는 상이한 목적을 위해 개별적으로 투여되는) 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체와 조합되어 병용으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 면역억제제에 커플링된 합성 나노담체를 포함하는 본원에 제공된 조성물은 치료 거대분자, 바이러스 벡터, 또는 APC 제시가능한 항원의 1개월, 1주, 6일, 5일, 4일, 3일, 2일, 1일, 12시간, 6시간, 5시간, 4시간, 3시간, 2시간, 또는 1시간 내에 투여되지 않는다. 상기의 일부 실시양태에서, 또 다른 치료제와 병용으로 투여되는 경우에, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 본원에 제공된 효과를 위한 것이고, 상이한 목적을 위한 것이 아니고/거나 (또는 적어도 단독으로는 아님), 다른 치료제에 대한 효과를 위한 것이 아니다 (또는 적어도 단독으로는 아님). 일부 실시양태에서, 다른 치료제 및 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체가 병용으로 투여되지 않는 경우에, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는, 예컨대 면역억제제를 포함하는 나노담체가 다른 치료제와 병용으로 투여되는 경우에 달성되는 다른 치료제에 대해 효과, 또는 임상적으

로 의미있는 또는 실질적인 효과를 갖지 않는다.

[0180] 일부 실시양태에서, 다른 치료제 및 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체가 둘 다 병용으로 투여되거나 또는 그렇지 않은 경우에, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 자가포식에 대해 단독의, 또는 예컨대 다른 치료제에 대한 또 다른 효과에 더하여 임상적으로 유의한 효과를 갖는다.

[0181] 일부 실시양태에서, 다른 치료제 및 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체가 병용으로 투여되지 않거나 또는 병용으로 투여되지 않지만 본원에 제공된 목적을 위해 투여되는 경우에, 다른 치료제에 대한 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체의 효과는 필요하지 않거나 또는 추가의 효과이다 (병용으로 투여되는 경우). 일부 실시양태에서, 다른 치료제 및 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체가 병용으로 투여되지 않는 경우에, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 면역억제제를 포함하는 나노담체가 다른 치료제와 병용으로 투여되는 경우에 달성되는 다른 치료제에 대한 효과, 또는 임상적으로 의미있는 또는 실질적인 효과 (예를 들어, 다른 치료제의 증가된 효능)를 갖지 않는다.

[0182] 본원에 기재된 조성물 및 방법은 1종 이상의 자가포식-연관 질환 또는 장애를 갖거나 또는 가질 위험이 있는 대상체에 대해 사용될 수 있다. 자가포식-연관 질환 및 장애의 예는 리소솜 축적 질환, 신경변성 질환 (예를 들어, 알츠하이머병, 파킨슨병, 헌팅턴병; 다른 운동실조), 만성 염증성 질환 (예를 들어, 염증성 장 질환, 크론병, 류마티스 관절염, 루푸스, 다발성 경화증, 만성 폐쇄성 폐 질환/COPD, 폐 섬유증, 낭성 섬유증, 쇼그렌병; 고혈당 장애, 당뇨병 (I 및 II) (예를 들어, 중증 인슐린 저항성, 고인슐린혈증, 인슐린-저항성 당뇨병 멘텐홀 증후군, 베르너 증후군, 요정증, 및 지방위축성 당뇨병), 이상지혈증 (예를 들어 고지혈증, 상승된 저밀도 지단백질 (LDL), 저하된 고밀도 지단백질 (HDL), 상승된 트리글리세리드), 대사 증후군, 간 질환, 신질환 (예를 들어, 플라크, 사구체 질환), 심혈관 질환 (예를 들어, 허혈, 졸중, 압력 과부하 및 재관류 동안의 합병증), 근육 변성 및 위축 (예를 들어, 근육 이영양증, 베커 근육 이영양증 (BMD), 선천성 근육 이영양증 (CMD), 베스렘 CMD, 후쿠야마 CMD, 근육-눈-뇌 질환 (MEB), 경직 척추 증후군, 올리히 CMD, 위커-워버그 증후군 (WWS), 뒤시엔느 근육 이영양증 (DMD), 에머리-드레이푸스 근육 이영양증 (EDMD), 안면견갑상완 근육 이영양증 (FSHD), 지대 근육 이영양증 (LGMD), 근긴장성 이영양증 (DM), 안인두 근육 이영양증 (OPMD)), 선천성 대사 이상 (유기 산혈증, 메틸말론산혈증, 프로피오네이트 산혈증, 오르니틴 트랜스카르브아밀라제 결핍), 노화 증상 (예를 들어, 근육 위축, 노쇠, 대사 장애, 저등급 염증, 아테롬성동맥경화증 졸중, 연령-연관 치매, 알츠하이머병, 및 우울증을 포함한 정신 상태), 졸중, 척수 손상, 동맥경화증, 감염성 질환 (예를 들어, 박테리아, 진균, 세포, 바이러스 감염), 발생 (예를 들어, 적혈구 분화), 및 배아발생/가임성/불임을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0183] 예시적인 자가면역 질환은 에디슨병, 무감마글로불린혈증, 원형 탈모증, 아밀로이드증, 강직성 척추염, 항-GBM/항-TBM 신염, 항인지질 증후군, 자가면역 혈관부종, 자가면역 자율신경실조증, 자가면역 뇌척수염, 자가면역 간염, 자가면역 내이 질환 (AIED), 자가면역 심근염, 자가면역 췌장염, 자가면역 망막병증, 자가면역 두드러기, 축삭 & 뉴런 신경병증 (AMAN), 발병, 베체트병, 양성 점막 유착포창, 수포성 유착포창, 캐슬만병 (CD), 복강 질환, 샤가스병, 만성 염증성 탈수초성 다발신경병증 (CIDP), 만성 재발성 다초점성 골수염 (CRMO), 처그-스트라우스, 반흔성 유착포창, 코간 증후군, 저온 응집소 질환, 선천성 심장 차단, 콕사키 심근염, CREST 증후군, 크론병, 포진성 피부염, 피부근염, 데빅병 (시신경척수염), 원판상 루푸스, 드레슬러 증후군, 자궁내막증, 호산구성 식도염 (EoE), 호산구성 근막염, 결절성 홍반, 본태성 혼합 한랭글로불린혈증, 에반스 증후군, 섬유근육통, 섬유화 폐포염, 거대 세포 동맥염 (측두 동맥염), 거대 세포 심근염, 사구체신염, 굿패스처 증후군, 다발혈관염 동반 육아종증, 그레이브스병, 길랑-바레 증후군, 하시모토 갑상선염, 용혈성 빈혈, 헤노흐-셴라인 자반증 (HSP), 임신성 포진 또는 임신성 유착포창 (PG), 저감마글로불린혈증, IgA 신병증, IgG4-관련 경화성 질환, 면역 혈소판감소성 자반증 (ITP), 봉입체 근염 (IBM), 간질성 방광염 (IC), 소아 관절염, 소아 당뇨병 (제1형 당뇨병), 소아 근염 (JM), 가와사키병, 램버트-이튼 증후군, 백혈구과피성 혈관염, 편평 태선, 경화성 태선, 목질 결막염, 선상 IgA 질환 (LAD), 루푸스, 만성 라임병, 메니에르병, 현미경적 다발혈관염 (MPA), 혼합 결합 조직 질환 (MCTD), 무런 케양, 뮌셔-하버만병, 다발성 경화증, 중증 근무력증, 근염, 기면증, 시신경척수염, 호중구 감소증, 안구 반흔성 유착포창, 시신경염, 회귀성 류마티즘 (PR), PANDAS, 부신생물성 소뇌 변성 (PCD), 발작성 야간 혈색소뇨 (PNH), 패리 롬버그 증후군, 주변부 포도막염 (말초 포도막염), 파소네지-터너 증후군 천포창, 말초 신경병증, 정맥주위 뇌척수염, 악성 빈혈 (PA), POEMS 증후군, 결절성 다발동맥염, 다선성 증후군 유형 I, II, III, 류마티스성 다발근육통, 다발근염, 심근경색후 증후군, 심막절개술후 증후군, 원발성 담즙성 간경변증, 원발성 경화성 담관염, 프로게스테론 피부염, 건선, 건선성 관절염, 순수 적혈구 무형성증 (PRCA), 괴저성 농피증, 레이노 현상, 반응성 관절염, 반사 교감신경 이영양증, 재발성 다발연골염, 하지 불안 증후군 (RLS), 복막후 섬유증, 류마티스성 열, 류마티스 관절염, 사르코이드증, 슈미트 증후군, 공막염, 경피증, 쇼그

렌 증후군, 정자 & 고환 자가면역, 강직 인간 증후군 (SPS), 아급성 박테리아 심내막염 (SBE), 스삭 증후군, 교감신경성 안염 (SO), 다카야스 동맥염, 측두 동맥염/거대 세포 동맥염, 혈소판감소성 자반증 (TTP), 톨로사-헌트 증후군 (THS), 횡단성 척수염, 제1형 당뇨병, 궤양성 결장염 (UC), 미분화 결합 조직 질환 (UCTD), 포도막염, 혈관염, 백반증 및 베게너 육아종증 (또는 다발혈관염 동반 육아종증 (GPA))을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0184] 예시적인 신경변성 질환은 탈수초성 질환 (예를 들어, 다발성 경화증 및 급성 횡단성 척수염); 추체외로 및 소뇌 장애 (예를 들어, 피질척수계의 병변); 기저 신경질의 장애 또는 소뇌 장애; 파다운동성 운동 장애 (예를 들어, 헌팅톤병, 헌팅톤 무도병 및 노인성 무도병); 약물-유발 운동 장애 (예를 들어, CNS 도파민 수용체를 차단하는 약물에 의해 유발된 것); 과소운동 운동 장애 (예를 들어, 파킨슨병); 진행성 핵상 마비; 소뇌 및 척수소뇌 장애 (예를 들어, 소뇌의 구조적 병변); 척수소뇌 변성 (예를 들어, 척수 운동실조, 프리드라이히 운동실조, 소뇌 피질 변성, 다계통 변성 (멘셀, 테제린-토마스, 사이-드래거, 및 마차도요셉)); 전신 장애 (레프슈병, 무베타지단백혈증, 운동실조, 모세혈관확장증, 및 미토콘드리아 다계통 장애); 운동 단위의 장애 (예를 들어, 신경원성 근육 위축 (전각 세포 변성, 예컨대 근위축성 측삭 경화증, 영아 척수성 근육 위축 및 소아 척수성 근육 위축)); 알츠하이머병; 근위축성 측삭 경화증 (ALS), 다운 증후군 (예를 들어, 중년); 미만성 루이 소체 질환; 루이 소체형 노인성 치매; 베르니케-코르사코프 증후군; 만성 알콜중독; 크로이츠펔트-야콥병; 아급성 경화성 범뇌염, 할러보르텐 스파츠병; 및 권투선수 치매를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 신경변성 질환은 알츠하이머병이다. 일부 실시양태에서, 신경변성 질환은 헌팅톤병이다. 일부 실시양태에서, 신경변성 질환은 파킨슨병이다. 일부 실시양태에서, 신경변성 질환은 ALS이다.

[0185] 본원에 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 한 실시양태에서 대상체는 염증성 질환을 갖거나 또는 가질 위험이 있는 것이다. 염증성 질환은 기관 이식 거부; 기관 이식으로 유발된 재산소화 손상; 만성 염증성 관절 질환 (예를 들어, 관절염, 류마티스 관절염, 골관절염 및 증가된 골 재흡수와 연관된 골 질환); 염증성 장 질환 (예를 들어, 회장염, 궤양성 결장염, 바렛 증후군, 및 크론병); 염증성 폐 질환 (예를 들어, 천식, 성인 호흡곤란 증후군, 및 만성 폐쇄성 기도 질환); 눈의 염증성 질환 (예를 들어, 각막 이영양증, 트라코마, 회선사상충증, 포도막염, 교감신경성 안염 및 안내염); 잇몸의 만성 염증성 질환 (예를 들어, 치은염 및 치주염); 결핵; 나병; 신장의 염증성 질환 (예를 들어, 요독성 합병증, 사구체신염 및 신증); 피부의 염증성 질환 (예를 들어, 경화성 피부염, 건선 및 습진); 중추 신경계의 염증성 질환 (예를 들어, 신경계의 만성 탈수초성 질환, 다발성 경화증, AIDS-관련 신경변성, 알츠하이머병, 감염성 수막염, 뇌척수염, 파킨슨병, 헌팅톤병, 근위축성 측삭 경화증, 및 바이러스 또는 자가면역 뇌염); 자가면역 질환 (예를 들어, 제I형 및 제II형 당뇨병); 당뇨병성 합병증 (예를 들어, 당뇨병성 백내장, 녹내장, 망막병증, 신병증, 미세알부민뇨, 진행성 당뇨병성 신병증, 다발신경병증, 발의 괴저, 아테롬성동맥경화성 관상 동맥 질환, 말초 동맥 질환, 비-케톤성 고혈당성-고삼투압성 혼수, 단일신경병증, 자율 신경병증, 족부 궤양, 관절 문제, 및 피부 또는 점막 합병증, 예컨대 감염, 정강 반점, 칸디다 감염 또는 당뇨병 지방 생괴사; 면역-복합체 혈관염 전신 홍반성 루푸스 (SLE)); 심장의 염증성 질환 (예를 들어, 심근병증, 허혈성 심장 질환 고콜레스테롤혈증, 및 아테롬성동맥경화증); 및 유의한 염증 성분을 가질 수 있는 임의의 다른 질환 또는 장애 (예를 들어, 전자간증, 만성 간부전, 및 뇌 및 척수 외상)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 염증성 질환은 또한 그람-양성 또는 그람 음성 쇼크, 출혈성 또는 아나필락시스성 쇼크에 의해 예시되는 신체의 전신 염증일 수 있다.

[0186] 간 질환은 대사 간 질환 (예를 들어, 비알콜성 지방간 질환 (NAFLD) 및 비알콜성 지방간염 (NASH)); 알콜-관련 간 질환 (예를 들어, 지방간, 알콜성 간염); 자가면역 간 질환 (예를 들어, 자가면역 간염, 원발성 담즙성 간경변증, 원발성 경화성 담관염); 바이러스 감염 (예를 들어, A형 간염, B형 간염, 또는 C형 간염); 유전성 대사 장애 (예를 들어, 알라질 증후군, 알파-1 항트립신 결핍, 크리글러-나자르 증후군, 갈락토스혈증, 고셔병, 우레아 주기 장애 (예를 들어, 오르니틴 트랜스카르브아밀라제 (OTC) 결핍), 길버트 증후군, 혈색소증, 리소솜 산리파제 결핍 (LAL-D), 유기산혈증 (예를 들어, 메틸말론산혈증), 라이 증후군, 제I형 글리코겐 축적 질환, 및 윌슨병); 약물 간독성 (예를 들어, from 노출 to 아세트아미노펜, 비-스테로이드성 항염증 약물 (NSAID), 아스피린, 이부프로펜, 나프록센 소듐, 스타틴, 항생제, 예를 들어, 아목시실린-클라불라네이트 또는 에리트로마이신, 관절염 약물, 예를 들어, 메토타렉세이트 또는 아자티오프린, 항진균 약물, 니아신, 스테로이드, 알로푸리놀, 항바이러스 약물, 화학요법, 허브 보충제, 예를 들어, 알로에 베라, 블랙 코호시, 카스카라, 차파랄, 컴프리, 마황, 또는 카와, 비닐 클로라이드, 사염화탄소, 파라쿼트, 또는 폴리염소화 비페닐에의 노출로부터); 및 섬유증 (예를 들어, 간경변증)을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0187] 선천성 대사 이상은 유기산혈증, 메틸말론산혈증, 프로피오네이트 산혈증, 우레아 주기 장애, 오르니틴 트랜스

카르브아밀라제 결핍, 시트룰린혈증, 호모시스틴뇨증, 갈락토스혈증, 단풍당뇨증 (MSUD), 페닐케톤뇨, 글리코겐 축적 질환 유형 1-13, G6PD 결핍, 글루타르산혈증, 티로신혈증, 아미노산 대사 장애, 지질 대사 장애, 탄수화물 대사 장애를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0188] 감염성 질환은 바이러스, 박테리아, 미코박테리아, 미코플라스마, 스피로헤타, 진균, 기생충, 아메바, 연충, 또는 포자충에 의해 유발되는 것을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 질환은 박테리아 감염이다. 다른 실시양태에서, 질환은 바이러스 감염이다. 일부 실시양태에서, 질환은 미코박테리움 투베르쿨로시스(Mycobacterium tuberculosis)에 의해 유발되는 결핵이다. 일부 실시양태에서, 감염성 질환은 A군 스트렙토코쿠스(Streptococcus)에 의해 유발된다. 일부 실시양태에서, 질환은 바이러스성 질환이다. 일부 실시양태에서, 바이러스 감염은 포진 바이러스 (예를 들어, 단순 포진 바이러스 유형 I)에 의해 유발된다.

[0189] 투여

[0190] 본원에 제공된 조성물은 투여 스케줄에 따라 투여될 수 있다. 다수의 가능한 투여 스케줄이 본원에 제공된다. 따라서, 본원에 제공된 대상체 중 어느 하나는 본원에 제공된 투여 스케줄 중 어느 하나에 따라 치료될 수 있다. 예로서, 본원에 제공된 대상체 중 어느 하나는 이들 투여 스케줄 중 어느 하나에 따라 면역억제제, 예컨대 라파마이신을 포함하는 합성 나노담체를 포함하는 조성물로 치료될 수 있다.

[0191] 실시예

[0192] 실시예 1: 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체의 합성 (예측)

[0193] 면역억제제, 예컨대 라파마이신을 포함하는 합성 나노담체는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 임의의 방법을 사용하여 생산할 수 있다. 바람직하게는, 본원에 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나의 일부 실시양태에서 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 미국 공개 번호 US 2016/0128986 A1 및 미국 공개 번호 US 2016/0128987 A1의 방법 중 어느 하나에 의해 생산되고, 기재된 이러한 생산 방법 및 생성된 합성 나노담체는 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 본원에 제공된 방법 또는 조성물 중 어느 하나에서, 면역억제제를 포함하는 합성 나노담체는 이러한 혼입된 합성 나노담체이다.

[0194] 실시예 2: 면역억제제에 커플링된 합성 나노담체는 오르니틴 트랜스카르브아밀라제 (OTC) 결핍 마우스 모델에서 자가포식을 유도한다

[0195] OTC 결핍에 대한 마우스 모델인 OTC^{spf-ash} 마우스를 출생 30일 후에 단일 주사의 ImmTOR™ (캡슐화된 라파마이신을 함유하는 PLA/PLA-PEG 합성 나노담체)로 4, 8, 또는 12 mg/kg의 용량으로 또는 공 나노입자로 처리하였다. OTC^{spf-ash} 마우스에게 투여된 단일 용량의 ImmTOR™은 자가포식 바이오마커 간 LC3II 및 ATG7을 유도하였고, 자가포식 바이오마커 p26을 감소시켰으며, 이는 자가포식의 증가와 일치한다 (도 1). 이는 OTC 결핍 마우스 모델에서, 단일 주사의 ImmTOR™이 자가포식을 증가시킨다는 것을 입증한다.

[0196] 실시예 3: 염증제를 사용한 처리 전 또는 후에 면역억제제에 커플링된 합성 나노담체의 투여

[0197] 실험실 모델에서 약물 독성 및 만성 및 급성 성질의 염증 반응에 의해 유도된 간부전을 연구하는 여러 용인된 모델이 존재하며, 이들 중 하나는 마우스를 준치사량의 폴리클로날 T 세포 활성화제, 콘카나발린 A (Con A)로 챌린지하는 것을 수반하고, 이는 극심한 간 손상을 유도하며, 종종 인간 간 질환, 구체적으로 자가면역 및 바이러스성 간염에서의 간 손상의 병리생리상태를 연구하는데 사용되어 왔다 (Tiegs et al., 1992; Miyazawa et al., 1998). Con A로 처리된 마우스는 즉각적으로, 혈청 중 트랜스아미나제의 수준의 현저한 증가 및 광범위한 간세포 괴사의 사멸로 이어지는 간 내로의 림프구의 대량 침윤을 특징으로 하는 간부전의 주요 임상적 및 생화학적 특색을 나타낸다 (Zhang et al., 2009). 전신 용량의 다양한 면역억제 화합물을 사용한 사전-처리가 Con A 챌린지에 대해 유익한 것으로 제시되었지만, 이들 개입은 간-특이적이지 않고 실용적이지도 않다.

[0198] 야생형 BALB/c 암컷 마우스의 3개의 군에 Con A (12 mg/g)를 단독으로 또는 Con A 주사 1시간 전 또는 1시간 후에 200 µg의 라파마이신으로 면역억제제에 커플링된 합성 나노입자 (ImmTOR™)의 정맥내 주사에 의해 정맥내로 (i.v.) 주사하였다. 24시간 후에, 동물을 최종적으로 채혈하고, 알라닌 아미노트랜스퍼라제 (ALT)의 혈청 농도를 마우스 알라닌 아미노트랜스퍼라제 활성 비색/형광측정 검정 (바이오비전(Biovision), 캘리포니아주 밀피타스)을 사용하여 측정하였다.

[0199] 단지 Con A 주사만을 제공받은 마우스는 거의 모두 극심한 ALT 상승을 나타낸 반면, 예방적으로든 (Con A 챌린지 1시간 전) 또는 치료적으로든 (Con A 챌린지 1시간 후) ImmTOR™로 처리된 마우스에서 ALT 수준은 훨씬 더

낮았다 (도 2). 이는 Con A 투여 전 또는 후 ImmTOR™ 나노입자의 단일 정맥내 주사가 Con A-유도된 독성에 대해 유의한 이익을 제공한다는 것을 입증한다.

- [0200] 실시예 4: 면역억제제에 커플링된 합성 나노입체는 오르니틴 트랜스카르브아밀라제 (OTC) 결핍 마우스 모델에서 소변 오로트산 수준을 감소시킨다
- [0201] 어린 OTC^{spf-ash} 마우스에서 ImmTOR™ 나노입자의 내약성 연구를 수행하였다. 공-나노입자 또는 ImmTOR™ 나노입자를 OTC^{spf-ash} 어린 마우스에게 i.v. 주사하였다. 14일 후, 주사한 마우스를 처리 마우스의 간 용해물에서 자가포식 마커에 대해 시험하였다 (도 3). 명백하게, OTC^{spf-ash} 마우스에게 투여된 단일 용량의 ImmTOR™은 자가포식 바이오마커 간 LC3II 및 ATG7을 유도하였고, 자가포식 바이오마커 p62를 감소시켰으며, 이는 자가포식의 증가와 일치한다. 이는 OTC 결핍 마우스 모델에서, 단일 주사의 ImmTOR™이 소변 오로트산을 감소시키고, 이러한 감소는 자가포식의 증가와 연관된다는 것을 입증한다.
- [0202] 실시예 5: 합성 나노입체는 자가포식 활성화를 통해 OTC^{spf-ash} 마우스에서 소변 오로트산 및 간 암모니아를 감소시킨다
- [0203] OTC^{Spf-Ash} 표현형에서 ImmTOR™ 입자의 유의한 효과를 추가로 조사하고 확인하기 위해, 어린 OTC^{Spf-Ash} 마우스 (30 일령)에게 12 mg/kg ImmTOR™ 입자 또는 12 mg/kg의 공 입자를 정맥내로 (IV) 주사하였다. 주사는 안와후로 수행하였다. ImmTOR™-처리된 동물 및 공 나노입자-처리된 동물로부터의 간을 막자로 분쇄하고, 0.5% 트리톤-x, 10 mM Hepes pH 7.4, 및 2 mM 디티오프레이트를 함유하는 용해 완충제를 사용하여 분말로부터 총 간 단백질 용해물을 제조하였다. 10 µg의 간 용해물을 자가포식의 가장 흔한 마커인 LC3II, ATG7 및 p62를 인식하는 항체를 사용한 웨스턴 블롯에 의해 분석하였다 (도 4a). 명백하게, ImmTOR™-처리된 동물로부터 수거한 간은 ATG7 자가포식 마커의 증가 및 LC3II 및 p62 마커의 감소를 나타내었으며 (도 4b), 이는 ImmTOR™ 투여 후 자가포식 유동의 활성화를 나타낸다. 이들 데이터는 ImmTOR™ 입자가 OTC^{Spf-Ash} 마우스에서 간 자가포식 유동을 활성화시킨다는 것을 지지한다.
- [0204] 실시예 6: 마우스 모델에서의 면역억제제에 커플링된 합성 나노입체의 투여
- [0205] 간으로 트래핑하는 합성 나노입체의 표현형 특징화를 검출하기 위해, 마우스의 군에 200 µg 용량의 라파마이신으로 면역억제제에 커플링된 합성 나노입체 (ImmTOR™-알렉사 488)를 표시된 날 (제-3일, 제-2일 및 제-1일)에 안와후로 주사하거나, 또는 비처리로 두었다. ImmTOR™을 캡슐화된 형광 태그 알렉사488로 변형시켰다 (ImmTOR™-알렉사 488) (도 5a). 표시된 시간 (제0일)에, 비장을 수거하고, 간을 가공하였다. 구체적으로, 간을 콜라게나제 IV로 관류시키고, 약 1mm 입방체로 커팅하였다. 400 U 콜라게나제 4를 첨가하고, 분해될 때까지 간을 교반하였다. 적혈구를 용해시키고, 여과하였다. 이어서, 간 세포를 Fc 수용체에 대해 차단하고, 세포 표면 수용체에 대해 염색한 후, 유동 세포측정법을 수행하였다. 유동 세포측정법의 프로토콜 및 분석은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 결과는 총 수거된 간 세포의 A488⁺의 백분율로서 제시되었다.
- [0206] 간으로의 ImmTOR™-A488 트래핑은 ImmTOR™-A488이 주사된 표시된 모든 시점 (제-3일, 제-2일 및 제-1일)에 시간-의존성 방식으로 명백하였고 (도 5b), 제-1일에 가장 높은 ImmTOR™-A488 발현 (즉, 24시간; 약 27%) 및 제-3일에 가장 낮은 ImmTOR™-A488 발현 (즉, 72시간; 약 10%)을 가졌다. 그러나, 시험된 다양한 시점 사이에서 간으로의 ImmTOR™-A488 트래핑의 통계적 유의성은 관찰되지 않았다.
- [0207] 실시예 7: 마우스 간에서의 MHC 부류 II 및 PD-L1 발현에 대한 면역억제제에 커플링된 합성 나노입체의 투여의 효과
- [0208] 2개 군의 마우스에게 유동 세포측정 분석을 위한 간 조직의 수거 및 가공 7일 전에 200 µg의 라파마이신으로 면역억제제에 커플링된 합성 나노입자 (ImmTOR™-CY5)를 안와후로 주사하거나, 또는 비처리로 두었다. 비처리 마우스를 비처리 대조군으로서 및 유동 세포측정기에 대한 기준선 결정으로서 제공하였다. 유동 세포측정법의 프로토콜 및 분석은 관련 기술분야에 공지되어 있다.
- [0209] 도 6a에 제시된 바와 같이, 그의 세포 표면 발현에 기초한 주어진 세포 유형의 발현을 먼저 유동 세포측정법을 통해 결정하였다. 구체적으로, 간 동모양혈관 내피 세포 (LSEC)는 F4/80 음성, CD68 음성, 및 만노스 수용체 양성 발현을 갖는 것으로 나타났다. 이어서, LSEC 상에서의 MHC-2의 발현을 평가하였다. 이어서, 수거된 간 세포 상에서의 MHC 부류 II의 상대적인 음성 또는 양성 발현을 보여주기 위해 ImmTOR™-CY5로 처리된 간 세포를

양성 또는 음성 Cy5 신호에 기초하여 분리하였다. ImmTOR™-CY5의 투여 7일 후, 종 간세포, ImmTOR™-CY5 주사의 부재 하의 간세포, 및 비처리 대조군 (나이프)과 비교한 경우, 간세포 MHC 부류 II는 하향조절된 반면 간세포 PD-L1은 상향조절되었다 (도 6b). PD-L1 상향조절은 감소된 면역 (T 세포 사멸) 및 증진된 면역 관용을 나타내는 것으로 관련 기술분야에 공지되어 있다. MHC 부류 II 하향조절은 적어도 감소된 면역 (CD4 헬퍼 T 세포) 및 증진된 면역 관용을 나타낸다. 따라서, 결과는 200 µg 라파마이신의 ImmTOR™의 투여가 적어도 PD-L1의 발현을 증가시키고 MHC 부류 II의 발현을 감소시키는 것을 통해 면역관용성 효과를 개선시킨다는 것을 보여준다.

[0210] 실시예 8: 면역억제제에 커플링된 합성 나노담체는 간세포에서 T 세포 반응 프로파일을 매개하였다

[0211] 간 상주 T 세포 집단에 대한 면역억제제에 커플링된 합성 나노입자의 효과를 소정의 기간에 걸쳐 결정하기 위해, 마우스를 하기 군으로 할당하였다: (1) 간 조직의 수거 및 가공 7일 전 200 µg의 라파마이신의 ImmTOR™-CY5, (2) 간 조직의 수거 및 가공 5일 전 200 µg의 라파마이신의 ImmTOR™-CY5, (3) 간 조직의 수거 및 가공 3일 전 200 µg의 라파마이신의 ImmTOR™-CY5, 또는 (4) 비처리 대조군 (도 7). 구체적으로, CD146 (또한 흑색종 세포 부착 분자 (MCAM)로도 공지됨)을 확인하는 면역-자기 비드 선택 방법을 통해 LSEC 세포를 증진시켰다. 간 대식세포 쿠퍼 세포 (KC) 및 T 세포를 가공된 간 세포로부터 직접 염색하였다. 이어서, LSEC, KC 및 그의 간-상주 T 세포의 표현형을 평가하였다.

[0212] ImmTOR™은 연구 설계에 표시된 바와 같은 기간에 걸쳐 주요 세포 표면 활성화 마커 (PD-L1, MHC-II) 발현을 매개하였다. 구체적으로, 200 µg 용량의 라파마이신의 ImmTOR™은 비처리 마우스 (나이프)와 비교하여 투여 7일, 5일, 및 3일 후에 마우스에서 PD-L1 발현을 유의하게 상향조절하였지만 (** p<0.01), 가장 높은 PD-L1 상향조절은 ImmTOR 주사 3일 후에 이루어진다 (도 8a). 유사하게, PD-L1은 KC에서 제3일 내지 제7일에 유의하게 (* p<0.05 또는 ** p<0.01) 상향조절되었으며, 최고 발현 수준은 ImmTOR 주사 후 제5일에 관찰되었다 (도 8b). PD-L1 상향조절은 또한 LSEC에서 성공적인 ImmTOR™ 흡수로 인해 확인되었다. 도 10에 제시된 바와 같이, 모든 ImmTOR™ 처리된 마우스에서의 LSEC는, 시점에 관계 없이, ImmTOR™ 처리되지 않은 나이브 마우스와 비교하였을 때 유의하게 상향조절된 PD-L1을 가졌다 (** p<0.01). 200 µg 용량의 라파마이신의 ImmTOR™은 비처리 마우스 (나이프)와 비교하여 투여 7일 후 및 5일 후에 마우스 LSEC에서 MHC 부류 II를 유의하게 하향조절하였고 (** p<0.01) (도 9a), 제3일에서 제7일까지 간 KC에서 보다 더 유의하게 하향조절하였다 (* p<0.05 또는 ** p<0.01) (도 9b).

[0213] ImmTOR™은 도 11a 및 도 11b에 제시된 바와 같이 항원 제시 세포 활성화 마커를 하향조절하였다. 구체적으로, CD80은 200 µg 용량의 라파마이신의 ImmTOR™ 투여 3일 후 (* p<0.05) 및 5일 후 (** p<0.01)에 LSEC에서 유의하게 하향조절되었다 (도 11a). CD86은 200 µg 용량의 라파마이신의 ImmTOR™ 투여 후 모든 시점 (7일, 5일, 및 3일)에서 LSEC에서 유의하게 하향조절되었다 (** p<0.01) (도 11b). 면역관용성 표현형을 나타내는 모든 3개의 마커 (하향조절된 CD80⁺, 하향조절된 CD86⁺, 및 상향조절된 PD-L1⁺)를 조합함으로써 LSEC에서 200 µg 용량의 라파마이신의 ImmTOR™에 의해 면역관용성 표현형이 유도되는 것으로 제시되었고, 여기서 LSEC는 비처리 마우스 (나이프)와 비교하여 투여 7일, 5일, 및 3일 후에 처리된 마우스에서 유의한 면역관용성 표현형을 보여주었다 (** p<0.01) (도 12).

[0214] 실시예 9: 면역억제제에 커플링된 합성 나노담체는 간세포에서 T 세포 반응 프로파일을 매개하였지만 가용성 면역억제제는 그렇지 않았다

[0215] 면역억제제의 처리와 연관된 간세포에서의 T 세포 반응 프로파일을 평가하기 위해, 2가지 연구를 수행하였다. 제1 연구에서, 마우스를 간 세포의 수거 및 가공 7일 전에 200 µg 용량의 라파마이신의 ImmTOR™로 처리하거나 또는 비처리로 두었다 (도 13). 제2 연구에서, 마우스를 하기 군으로 할당하였다: (1) 간 세포의 수거 및 가공 7일 전 200 µg 용량의 라파마이신의 ImmTOR™로의 안와후 주사, (2) 200 µg의 가용성 라파마이신으로의 복강 내 주사, 및 (3) 비처리 대조군 (도 13). 대안적으로, 추가의 시점 (5일 또는 3일)을 평가하였다. 둘 다의 연구에서, T 세포 프로파일링 및/또는 T 세포의 상대 수를 ImmTOR 주사 7일 후에 결정하였다.

[0216] 도 14a에 제시된 바와 같이, CD4 T 세포의 발현은 200 µg 용량의 라파마이신의 ImmTOR™의 투여 7일, 5일 및 3일 후에 나이브 마우스와 비교하여 유의하게 하향조절되었다. 구체적으로, CD4 T 세포는 200 µg 용량의 라파마이신의 ImmTOR™ 투여 5일 또는 3일 후와 비교하여 (***p<0.001) 200 µg 용량의 라파마이신의 ImmTOR™ 투여 7일 후에 가장 유의하게 감소하였다 (****p<0.0001). CD4 CD25 조절 T 세포는 200 µg 용량의 라파마이신의 ImmTOR™ 투여 7일 후, 5일 후 및 3일 후에 나이브 마우스와 비교하여 유의하게 상향조절되었다 (도 14b). 구체적으로, CD4 T CD25 조절 세포는 200 µg 용량의 라파마이신의 ImmTOR™ 투여 5일 또는 3일 후와 비교하여

(***p<0.001) 200 μ g 용량의 라파마이신의 ImmTOR™ 투여 7일 후에 가장 유의하게 증가하였다 (***p<0.0001). CD4 PD-1⁺ T 세포는 200 μ g 용량의 라파마이신의 ImmTOR™ 투여 7일 후 및 5일 후에 나이브 마우스와 비교하여 유의하게 상향조절된 반면 (*p<0.05), 200 μ g 용량의 라파마이신의 ImmTOR™ 투여 3일 후에는 마우스에 대해 유의한 변화가 관찰되지 않았다. (도 14c).

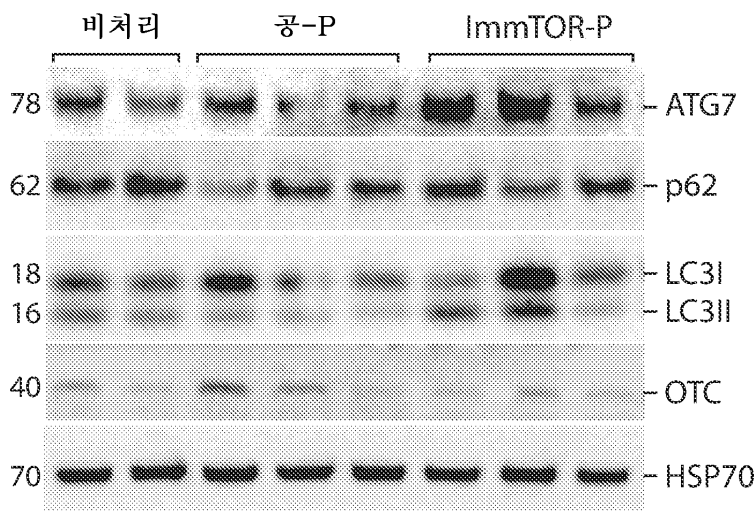
[0217] 도 15a 및 도 15b에 제시된 바와 같이, 200 μ g 용량의 라파마이신의 ImmTOR™은 가용성 라파마이신 또는 나이브, 비처리군과 비교하여 CD4⁺CD25⁺PD-1⁺ T 세포의 유도를 유의하게 증가시켰다. 가용성 라파마이신은 측정가능한 효과를 갖지 않았다. CD8⁺ T 세포의 백분율은 200 μ g 용량의 라파마이신의 ImmTOR™ 처리에 의해 유의하게 감소된 반면, 가용성 라파마이신은 측정가능한 효과를 갖지 않았다 (도 16a). 유사하게, 200 μ g 용량의 라파마이신의 ImmTOR™ 처리만이 나이브, 비처리군과 비교하여 이중 음성 (즉, CD3⁺CD4⁻CD8⁻) T 세포의 발현을 유의하게 증진시켰다 (도 16b).

[0218] 실시예 10: GvHD

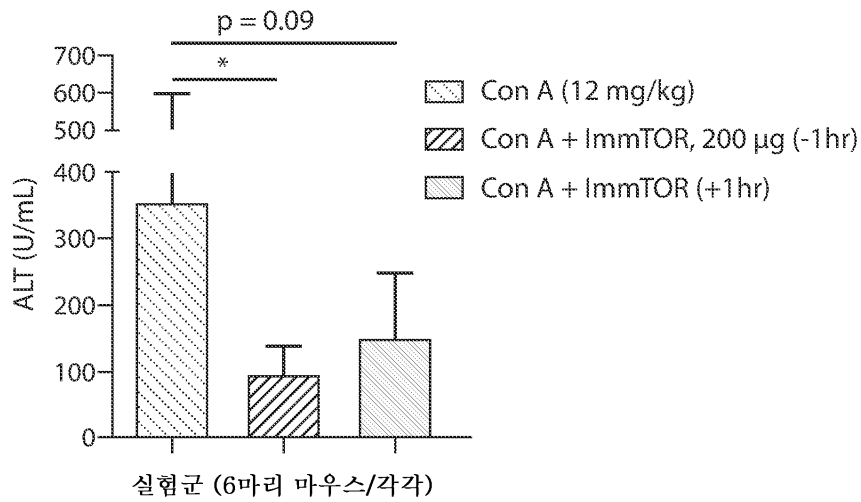
[0219] GvHD의 B6-에서-F1 또는 B6-에서-Balb 모델을 사용하여 15-50 μ g 용량의 라파마이신의 ImmTOR™ 투여의 효과를 평가하였다. 투여 방식은 복강내로 제공된 만성 라파마이신을 제외하고는 정맥내였다. 결과를 도 17-23에 제시한다.

도면

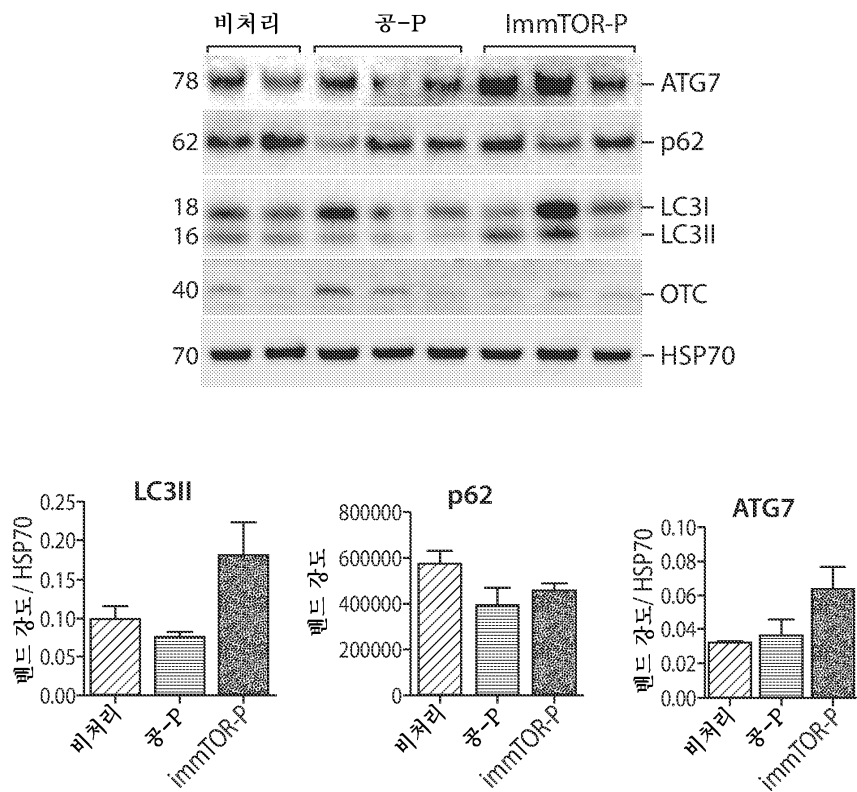
도면1



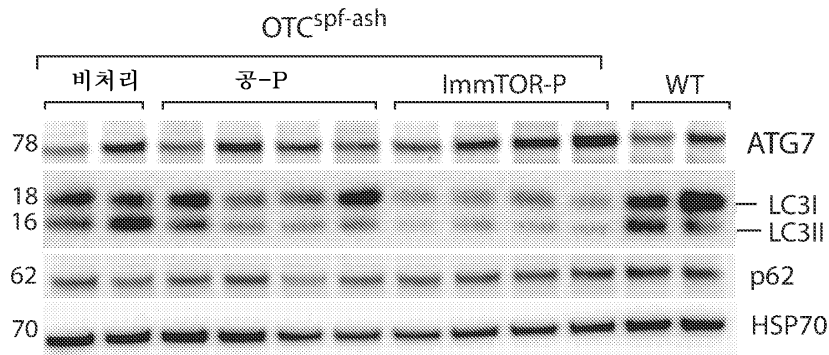
도면2



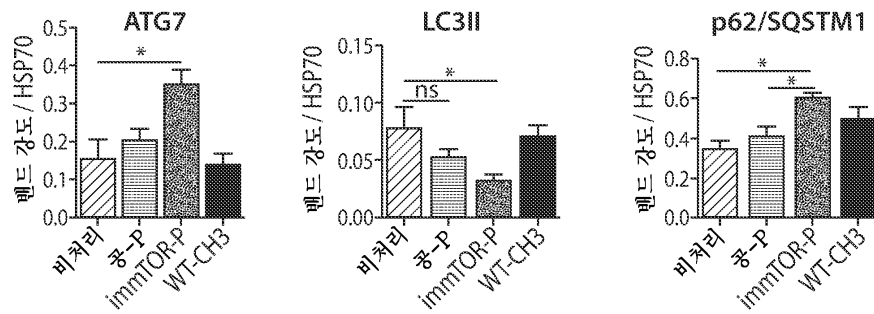
도면3



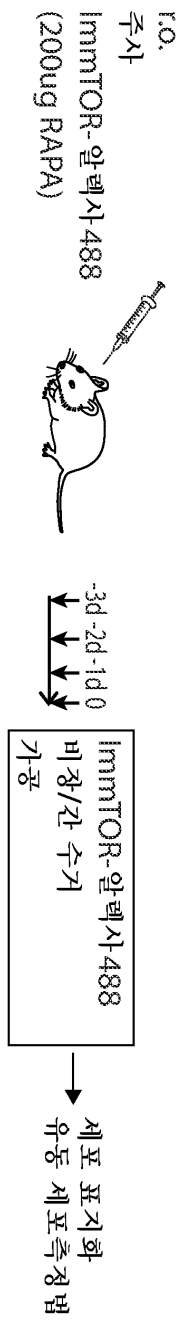
도면4a



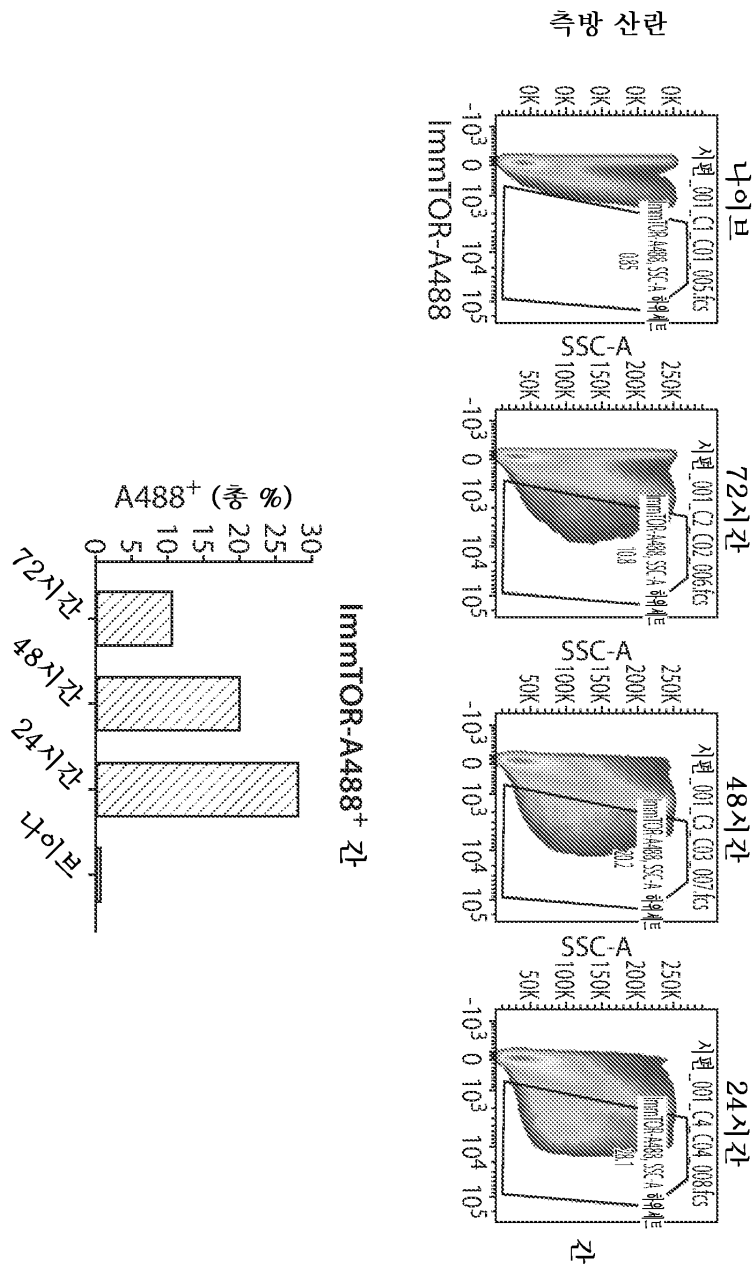
도면4b



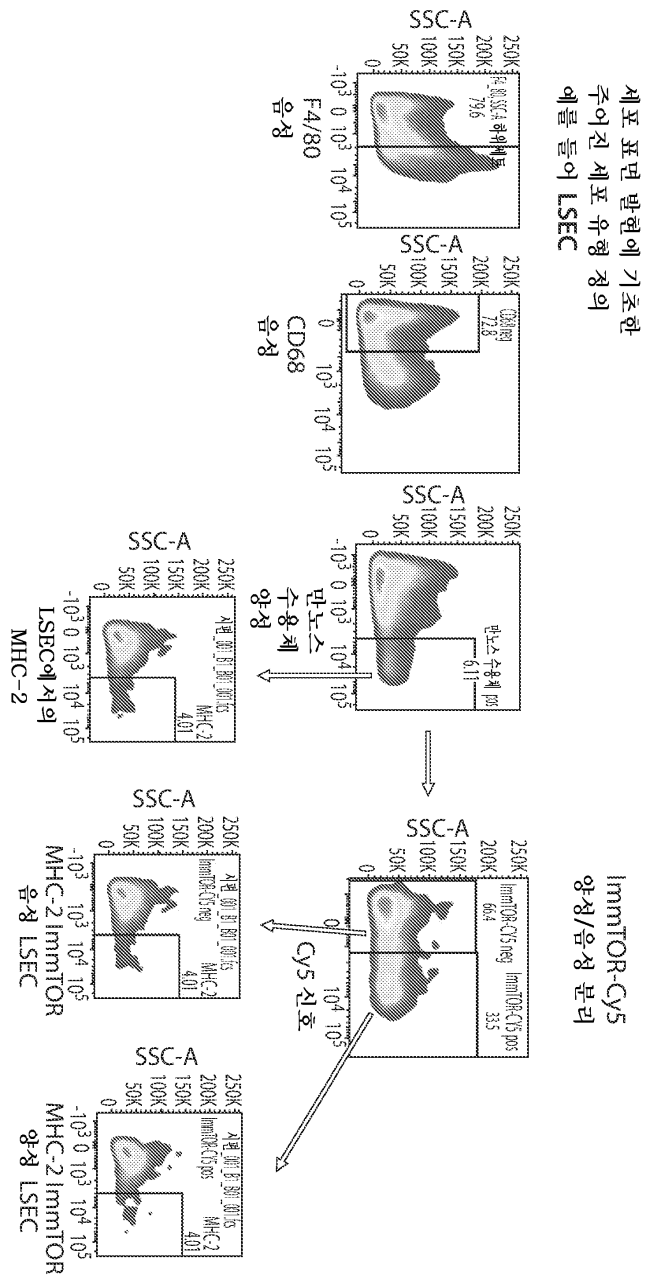
도면5a



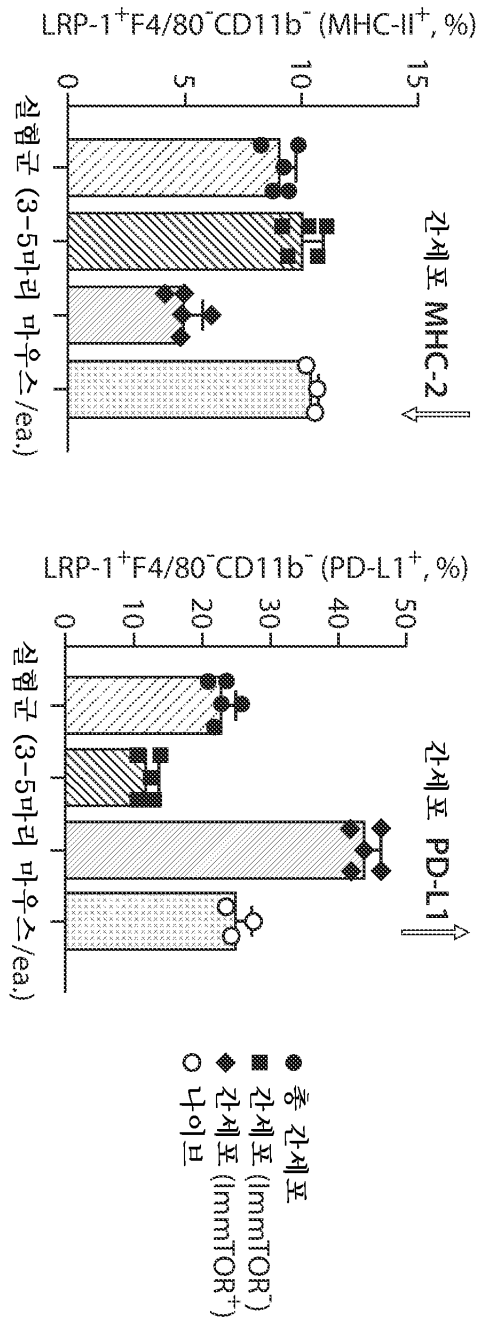
도면5b



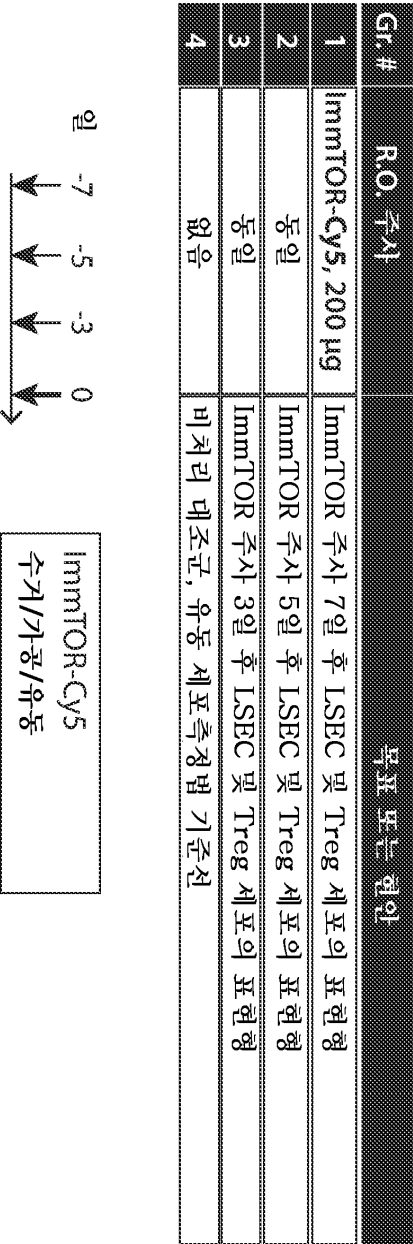
도면 6a



도면6b

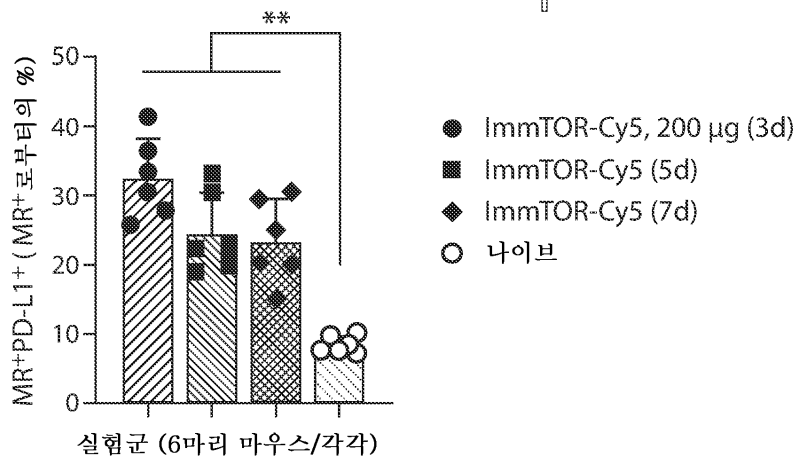


도면7



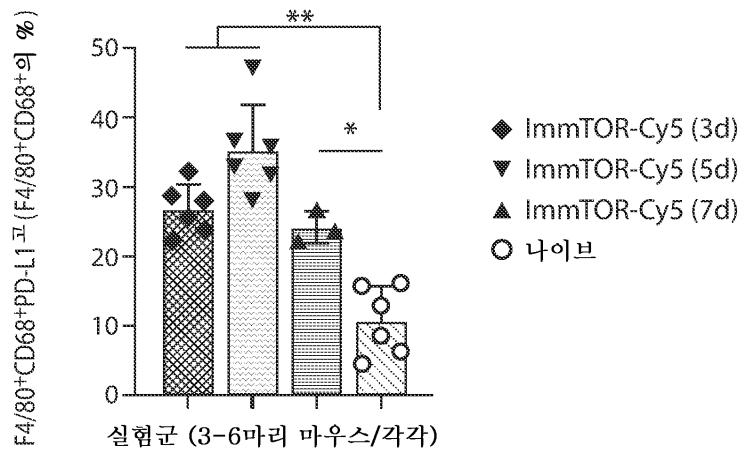
도면8a

ImmTOR 처리 후 LSEC에서의 PD-L1

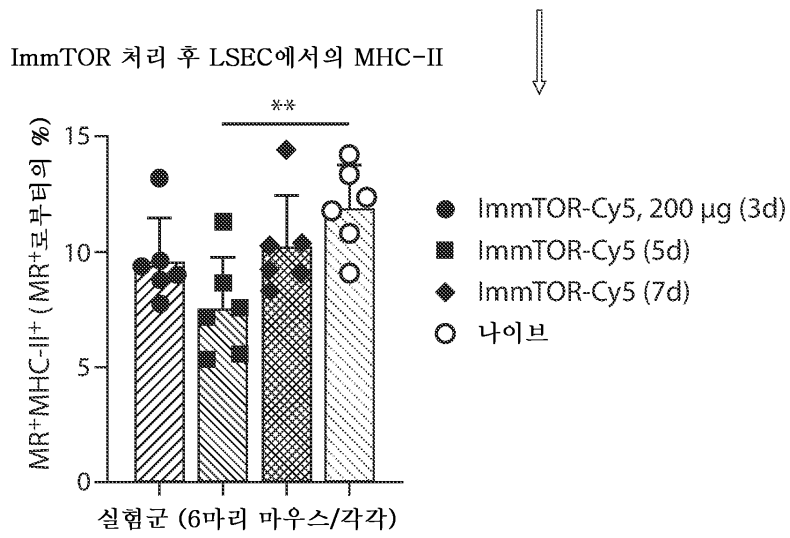


도면8b

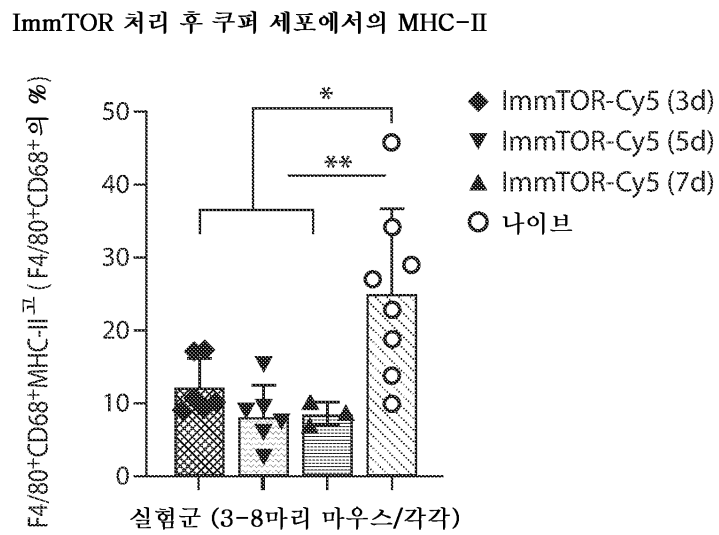
ImmTOR 처리 후 KC에서의 PD-L1



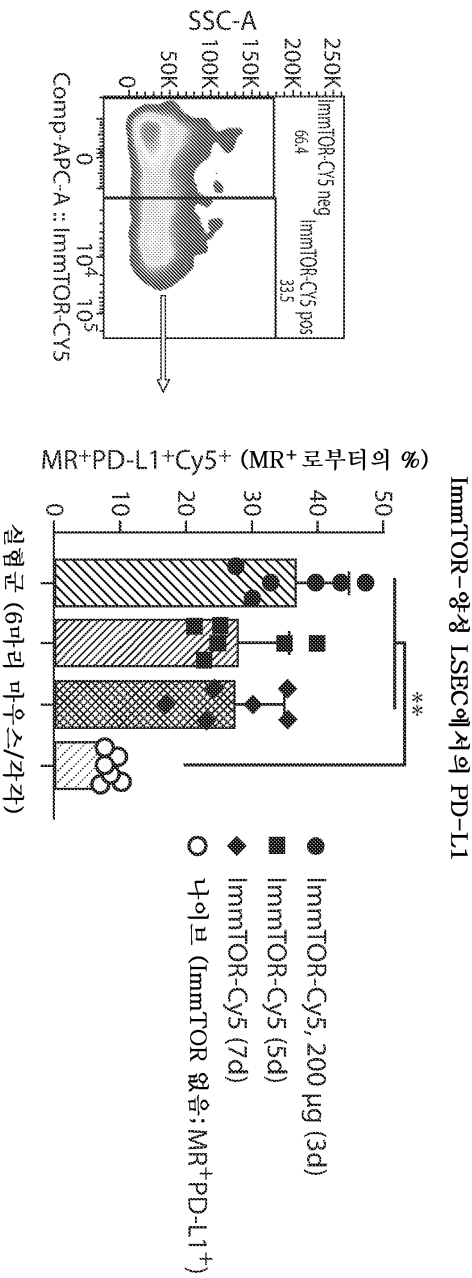
도면9a



도면9b

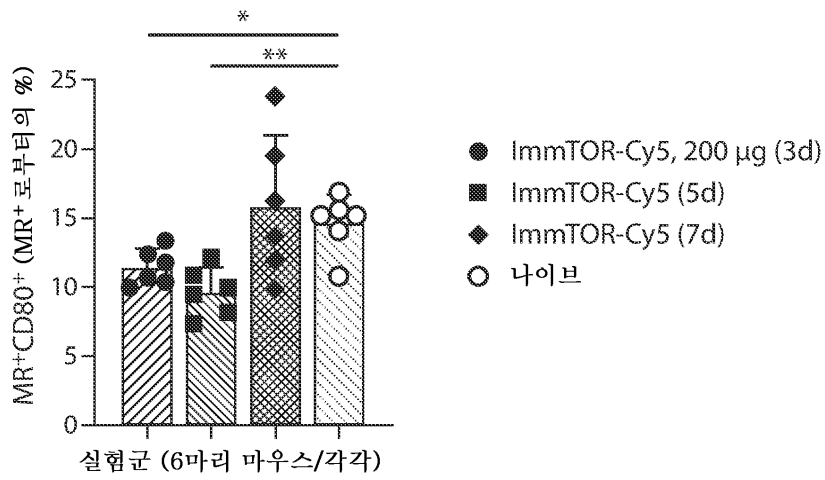


도면10



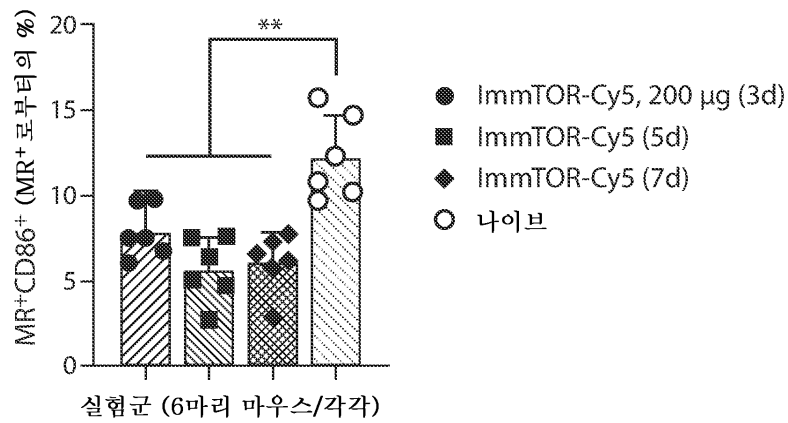
도면11a

ImmTOR 처리 후 LSEC에서의 CD80

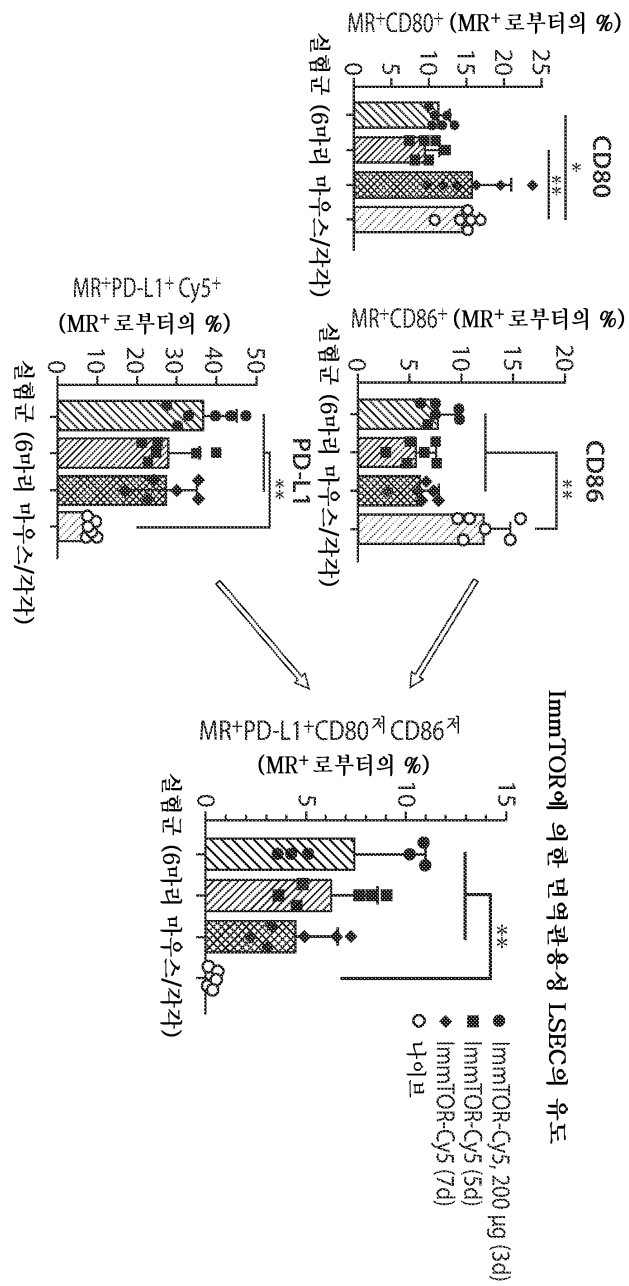


도면11b

ImmTOR 처리 후 LSEC에서의 CD86



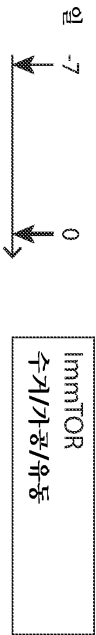
도면12



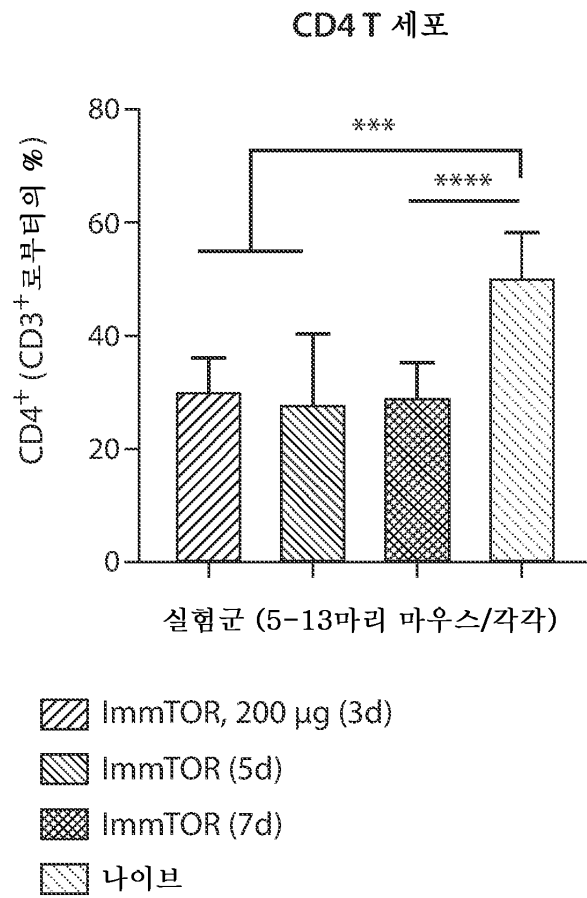
도면13

Gr. #	R.O. 주사	목표 또는 현안
1	ImnTOR, 200 µg	ImnTOR 주사 7일 후 T 세포의 표현형, 상대 수
2	없음	비치러 대조군, 유동 세포측정법 기준선

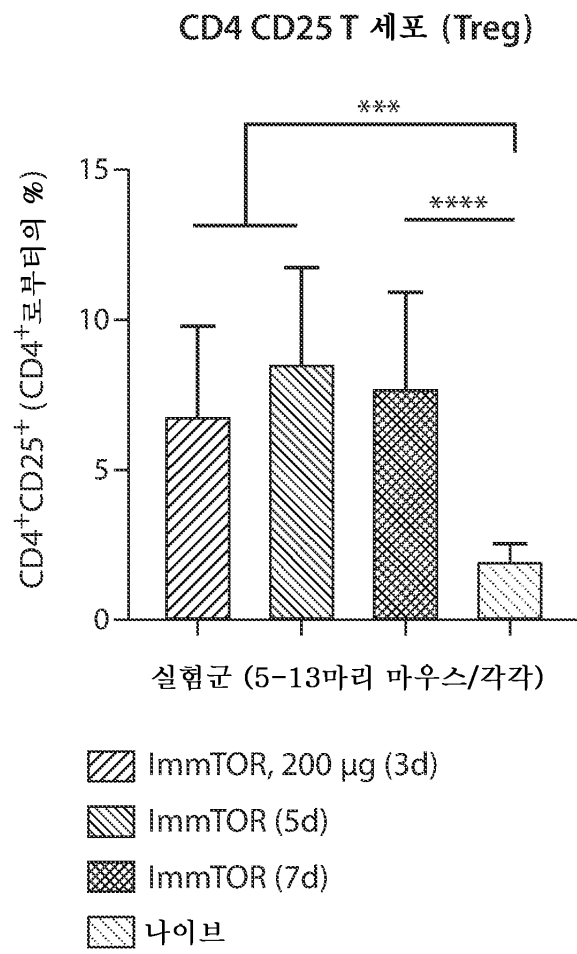
Gr. #	주사	목표 또는 현안
1	ImnTOR, 200 µg (r.o.)	ImnTOR 주사 7일 후 T 세포 프로파일링
2	라파마이신, 가용성, 200 µg (i.p.)	가용성 라파마이신 7일 후 T 세포 프로파일링, 군 1과 비교
3	없음	비치러 대조군, 유동 세포측정법 기준선



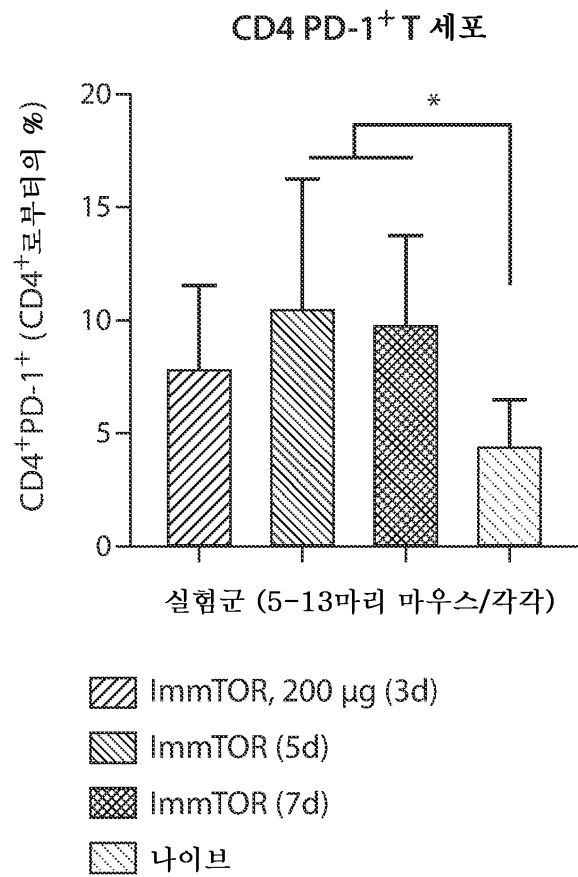
도면14a



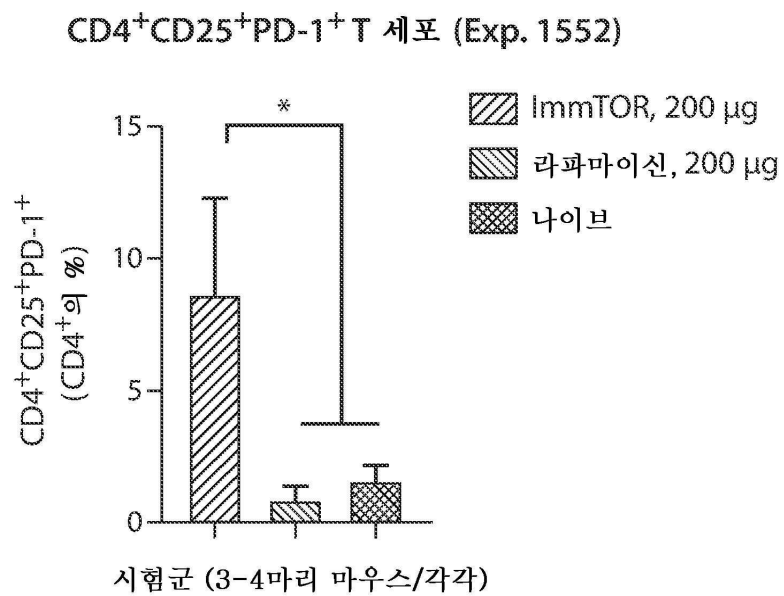
도면14b



도면14c

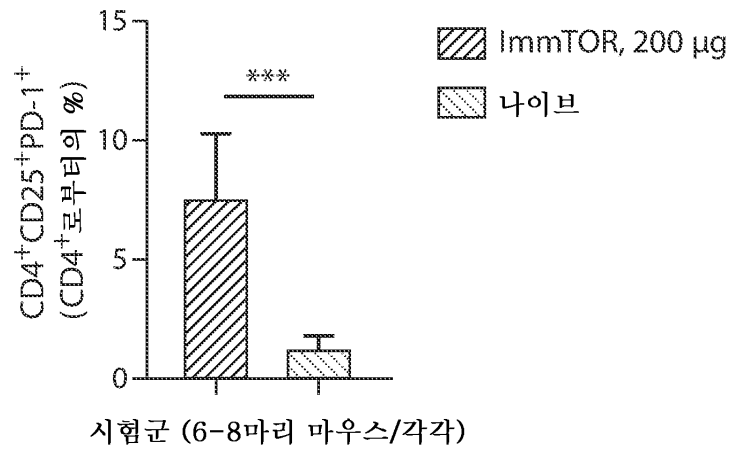


도면15a



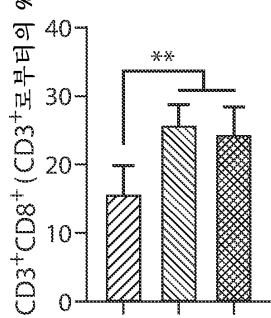
도면15b

CD4⁺CD25⁺PD-1⁺ T 세포 (1541+1552, 7d)

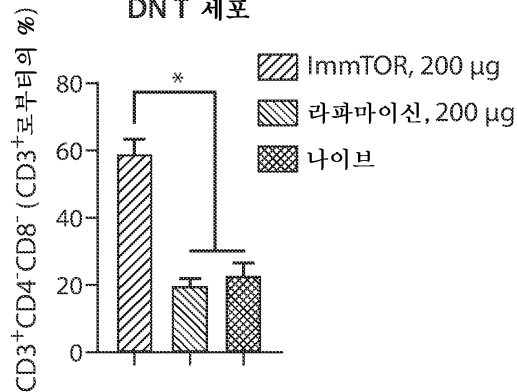


도면16a

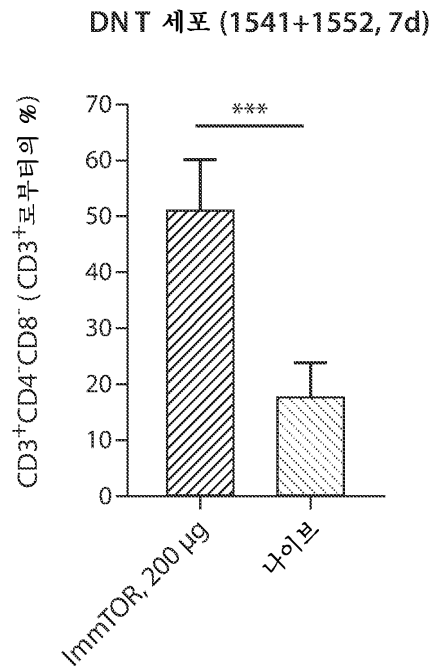
CD8⁺ T 세포



DNT 세포

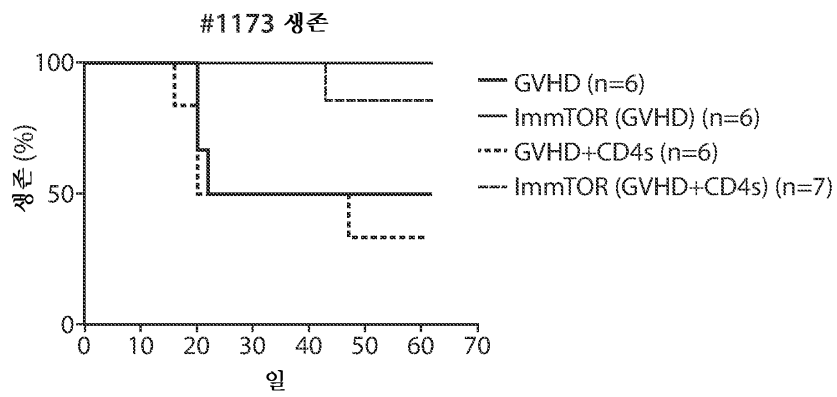


도면16b



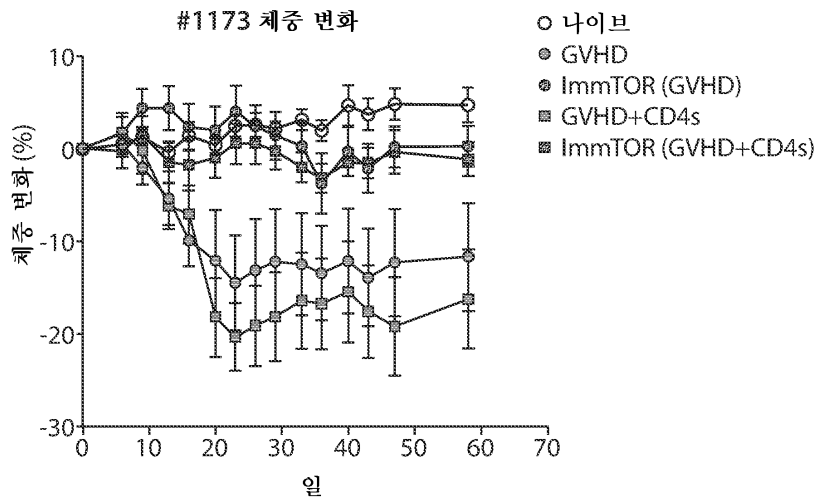
도면17

ImmTOR은 GvHD에서 치사성을 제한한다



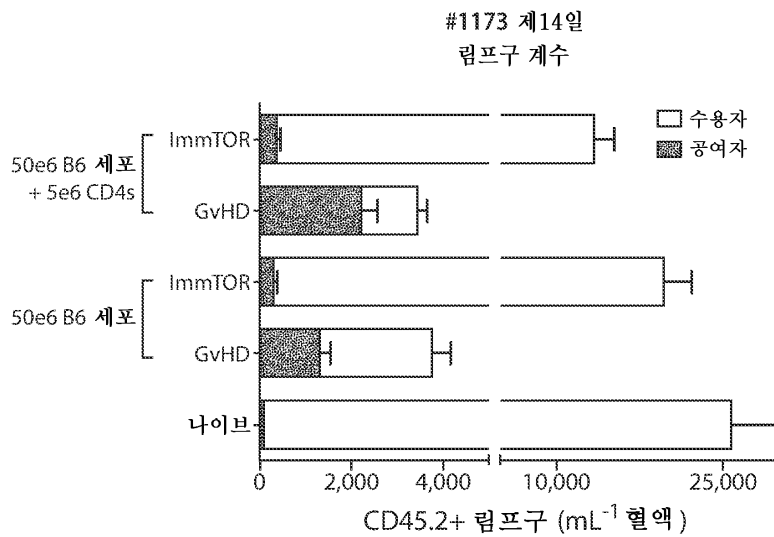
도면18

ImmTOR은 GvHD에서 체중 감소를 제한한다



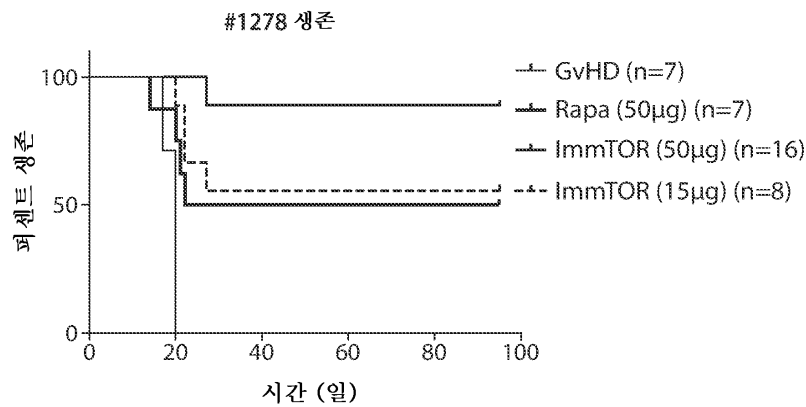
도면19

ImmTOR은 공여자 세포의 생존을 가능하게 하면서 숙주 림프구를 보존한다



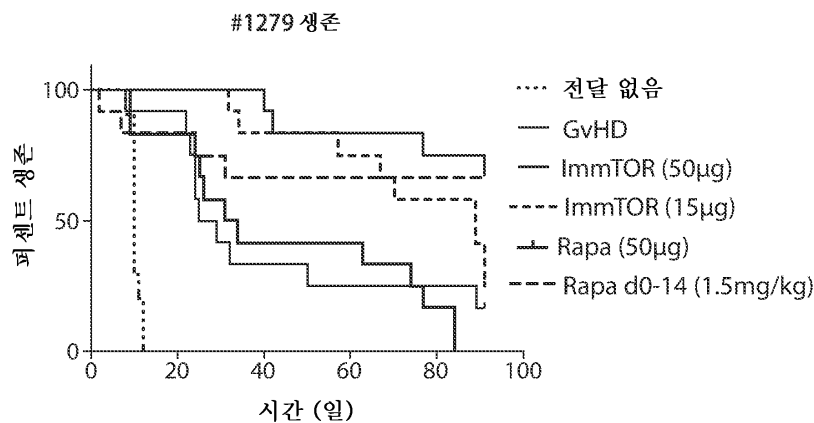
도면20

ImmTOR은 용량-의존성 방식으로 치사성을 제한한다



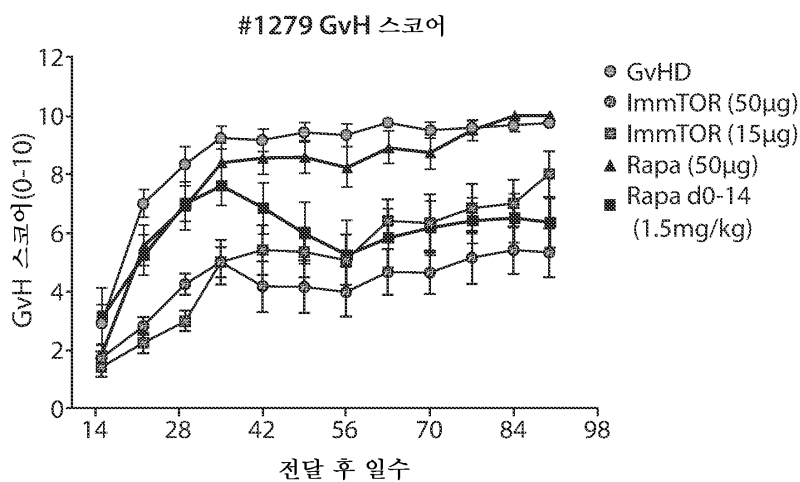
도면21

단일 용량 ImmTOR은 GvHD 치사성을 구제한다



도면22

ImmTOR은 GvHD의 정후를 감소시킨다



도면23

ImmTOR은 공여자 세포 생존을 증가시킨다

